

IJST

INTERNATIONAL

Journal for Sciences and Technology

Vol. (11)- No. (3)- SEPTEMBER 2016

ISSN:2305-9346

SJIF: 4.487/ICV:4.32/GIF:0.81

www.ijst-jo.com

IJST International Journal for Sciences & Technology

International Journal for Sciences and Technology

المجلة الدولية للعلوم والتكنولوجيا

Volume 11. No. 3/ September 2016 / ISSN: 2305-9346

A Refereed Scientific Journal Since 2006

مجلة علمية محكمة منذ عام 2006

Issued By:

The International Centre for Advancement of Sciences and Technology

In a cooperation with TSTC - Jordan

IJST Contact Information:

P.O. Box 2793 Amman 11953 Jordan

Tel. +962796543469

E-mails: info@ijst-jo.com / ijst.jordan@yahoo.com

URL: www.ijst-jo.com



Al- Shammari , Abdul- Jabbar N.

(Editor-in- Chief)

Professor of Microbiology / Dept. of Chemistry and Laboratory Medicine / Faculty of Sciences / Al-Balqa' Applied University / Al- Salt / Jordan
shammari@ijst-jo.com

Abbas, Jamal A.

Professor of Plant Ecophysiology / Faculty of Agriculture / Kufa University / Iraq
phdjamal@yahoo.com

Abdul- Ghani, Zaki G.

Professor of Microbiology/ Faculty of Pharmaceutical Sciences / Amman Private University / Jordan
zaki_abdulghani@yahoo.com

Abdul- Hameed, Hayder M.

PhD in Environmental Engineering / Environmental Engineering Dept./ Faculty of Engineering/ University of Baghdad/ Iraq
hayderalmunshi@yahoo.com

Abdullah, Ahmed R.

PhD in Cancer Immunology and Genetics /Biotechnology Research Centre / Al- Nahrain University / Baghdad / Iraq
ahmedrushdi1970@yahoo.com

Al- Daraji, Hazim J.

Professor of Avian Reproduction and Physiology / Animal Resources Dept./ College of Agriculture / University of Baghdad / Iraq
prof.hazimaldaraji@yahoo.com

Al- Douri, Atheer A. R

PhD in Microbiology/Faculty of Veterinary Medicine/ University of Baghdad / Iraq
aaldouri96@yahoo.com

Al- Faris, Abdulbari A.

Professor of Surgery / Dept. of Surgery and Obstetrics / College of Veterinary Medicine / University of Basrah / Iraq
Vetedu2000@yahoo.com

Al- Jashami, Najim A.

Professor of Nuclear Material Sciences / Dept. of Physics / College of Sciences / Kufa University / Iraq
na_phys@yahoo.com

Al- Mashaykhi, Akram Othman

PhD in IT / Amman Arab University for Graduate Studies / Jordan
akram.othman@gmail.com

Al- Mathkhoury, Harith J F.

Professor of Medical Microbiology / Dept. of Biology / College of Sciences / University of Baghdad/ Iraq
harith_fahad@yahoo.com

Al- Murrani, Waleed K.

Professor of Genetics and Biostatistics / University of Plymouth/ UK
profmurrani@yahoo.com

Al- Noor, Nadia H.

PhD. in Statistics, Mathematical Statistics / Dept. of Mathematics / College of Sciences / Al-Mustansiriya University / Baghdad / Iraq

Al- Noor, Taghreed H.

Professor of Chemistry / Dept. of Chemistry / College of Education – Ibn Al- Haitham / University of Baghdad / Iraq
drtaghreed2@gmail.com

Al- Samarrai, Taha H.

PhD. in Microbiology / Dept. of Medical Laboratory Sciences / College of Applied Sciences / University of Samarra / Iraq
tahaalsamarrai@gmail.com

Al- Saqur, Ihsan M.

Professor of Parasitology/ Faculty of Sciences / University of Baghdad / Iraq
drihsanalsagur@yahoo.com

Al- Shamaony, Loai

Professor of Biochemistry / Faculty of Pharmacy / Misr University for Sciences and Technology / Egypt
loaialshamaony@yahoo.com

Al- Shebani, Abdullah S.

PhD in Dairy Sciences and Technology / Food Sciences Dept./ Faculty of Agriculture / Kufa University / Iraq
Agrifood43@yahoo.com

Alwachi, Sabah N.

Professor of Physiology / Biology Dept./ College of Sciences/ University of Baghdad / Iraq
sabahalwachi@yahoo.com

Khamas, Wael

Professor of Anatomy and Histology / College of Veterinary Medicine / Western University of Health Sciences / Poma -California/ USA
wael_khamas@yahoo.com

Lafi, Shehab A.

Professor of Medical Microbiology / College of Medicine / Al- Anbar University / Iraq
shehab_6555@ymail.com

Editorial Board Secretary

Pharmacist. Nansi Elian

Amman- Jordan
ijst.jordan@yahoo.com

FORWARD

Dear Colleagues,

*Today, I write you about how our journal is moving to the new volume as we are now in 2016, eleven years without stop, despite the challenges we faced, and despite all constraints that our beloved Arab countries have while they are looking for more development achievements. What I want to say, is that the only weapon, as well as the tool to proceed to the gate of development is science and how we can use and adopt all the ways that make our cultures, our thoughts and our talents and research efforts to be converted into practices to improve life for us and for the coming generations and let the other parts of the world listen to us very appreciately. By this year, IJST had been awarded a new scientific impact factor, **that is (the Global Impact Factor- GIF) of a value scored 0.81. In addition, IJST had awarded an increase of the value scored for SJIF to be 4.487.***

*By the beginning of the current year, **a new Editorial Board Member has joined IJST, and it is our pleasure to welcome Prof. Taha Al- Samarraï from University of Samarra** and wishing him the best times while in our IJST journey.*

For all what we achieved, I would like to present my deepest thanking and great recognitions for all people and institutes who faithfully gave IJST their concerns, their cares, and their patiences to keep it as one of the leading journals in Arab and international worlds.

Thanks a lot for Prof. Jamal Abbas and Dr. Abdullah Al- Shebani from University of Kufa, Dr. Atheer Al- Douri , Prof. Hazim Al- Daraji from University of Baghdad, Prof. Waleed Al- Murrani for his endless support from Plymouth University, Prof. Abdulbari Abbas Al- Faris from University of Basrah, and finally to the one who stands always behind this great effort and performs her best with no disperence, non stopping, and with full of faith, loyalty and creative footprints at IJST, the Editorial Board Secretary of IJST. With you all, IJST is now here, and will continue as long as we breath, as we believe on our goal, and as we have the power from God to be with you.

IJST was a fruitful effort issued by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology – ICAST, which tries to take part in both globalization and revolution in information and communication technologies, because S&T development becoming not only the key elements of economic growth and industrial competitiveness, but also essential for improving the social development, the quality of life and global environment. ICAST took then a decision to establish a scientific alliance with TSTC (Tharwa for scientific Training & Consultations) and this alliance comes to support the efforts towards publishing IJST.

Today, we announce a new issue of our journal, that is the third issue from the eleven volume of IJST, September , 2016.

Finally, I hope that all significant figures of sciences whom joined the editorial board, the researchers, and the readers of our journal will keep IJST between their eyes and contribute in continuing its journey, with their remarks, valuable recommendations and their researching outcomes.

Thanks a lot for all who support IJST.

Editor-in-Chief

IJST

Abdul Jabbar Al- Shammari

The Referees for this Issue

** The referees and advisory group below are listed according to alphabetical order, with deep appreciation for all.*

Prof. Abdul- Jabbar N. Al- Shammari

Dept. of Chemistry and Laboratory Medicine, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Abdulbari A. Al- Faris

College of Veterinary Medicine ,University of Basra. Iraq

Dr. Abdullah Sh. M. Al- Shebani

Dept. of food sciences, Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Dr. Abdul-Wahab R. Hamad

Al-Zarqa University College. Jordan

Dr. Ahmed A. Al- Darraji

Colege of Dentistry, University of Wassit. Iraq

Dr. Atheer A.R. Al- Douri

College of Veterinary Medicine, University of Baghdad. Iraq

Dr. Hala Al Daghistani

Dept. of Medical Laboratory Sciences , College of Sciences , Al- Balqa' Applied University. Jordan

Prof. Harith F. Al- Mathkhouri

College of Sciences, University of Baghdad. Iraq

Prof. Hazim J. Al- Darraji

Animal Resources Dept., College of Agriculture , University of Baghdad . Iraq

Dr. Ibraheem N. Al- Tarawneh

Dept. of Chemistry, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Jamal A. Abbas

Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Dr. Loay Rahman

Dept. of Chemistry, Howard University, Washington DC. 20060 USA.

Prof. Mahmoud M. Othman Matar

College of Medicine, Al- Najah National University. Palestine

Prof. Mjid A. Al- Attar

Turunto / Canda.

Dr. Moayyad Al- Khataybeh

Dept. of Chemistry and Laboratory Medicine, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Najim A. Al- Jashami

Dept. of Physics, College of Sciences , University of Kufa. Iraq

Dr. Ola Mohammad Al-Sanabra

Dept. of Chemistry and Laboratory Medicine, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Taha H. Al- Samarrai

College of Sciences, University of Samarra. Iraq

Prof. Waleed Al- Murrani

University of Plymouth , United Kingdom

TABLE OF CONTENTS

* Articles in this issue are listed below according to field specialties order, starting by English section and followed by Arabic section.

(I) ENGLISH SECTION

AGRICULTURE

- Salt tolerance of Jordanian tomato landraces at seedling stage** 7- 12
Basmah M. M. Alabbadi & Ibrahim M. Makhadmeh

BIOLOGY

- Effect of *Citrullus Colocythis* water and alcoholic extracts on the viability of old world Screw Worm (OWS) *chrysomya bezzaina* fly** 13 -16
Mushtag A. M. A. Al- Helfi, Nasir A. A. Almansour & Mufeed A. L. Habeeb
- Effects of copper nanoparticles on reproductive organs of male albino rats** 17-24
Genan A. Al- Bairuty & Mohammed N. Taha

BIOPHYSICS

- Effect of combination of 635 nm Red laser and infrared 810 nm light on wound healing infected by *Acinetobacter Baumannii*** 25-31
Mawada M. Funjan, Fareed F. Rasheed & Alaa Nazar
- The effect of silver nanoparticles prepared with *Lawsonia inermis* extract on some multiple antibiotics resistant bacteria** 32-37
Salah S. Zain Al-Abdeen

BIOTECHNOLOGY

- Evaluation of her/2-neu gene status using FISH/CISH techniques in Iraqi breast carcinoma patients** 38-44
Maha F. Altaee, Noor M. Jabbar, Reyadh S. Mohammed & Rana Z. Naji

MEDICINE

- Prevalence of scabies in Anbar province / west of Iraq** 45-50
Abdullah S. Hasan
- Study of paronychia as risk factor of diabetic patients in Ramadi province** 51-54
Waleed I. A. Al-Obaidi, Thamir A. Alkubaisi & Zainab K. Abaas

MICROBIOLOGY

- Antibiotics susceptibility pattern to *Salmonella enteric serotype typhi* in Iraqi hospital 2013** 55-58
Zuhair I. Jassim, Ali H. Alwardi & Raghad A. Mohammed
- Epidemiological study of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis from Iraqi patients** 59-63
Shatha Th. Ahmed, Ahmed A. Mankhi, Ruqaya M. Ali & Batool A. Shihab
- Isolation of *E.coli* O157:H7 from bovine milk sample in Baghdad province** 64-68
Ezdiyar M. Al- Rubaie

Continue>>>> English Section

PHYSICS

- Assessment of natural radioactivity level and hazard index in cultivation medium (Peat moss and perlite)** 69-73
Ramla D. S. Alalawy

VETERINARY MEDICINE

- Anti hyperglycemic effects of colostrum, virgin and multipara camel milk in alloxan-induced diabetic rats** 74-79
Rabab S. Salman, Ala Al-Deen H. Jawad & Khalid G. Al-Fartosi
- Histological effects of repeated administration of Ivermectin alone or with the combination of vitamin C on ovaries and uterus of female rabbits** 80-86
Khawla B. N. Al-Jassim

VIROLOGY

- Molecular study of origin of Newcastle virus isolated in Iraq** 87-91
Ameen A. S. Al-Rawi

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION – قسم الدراسات والبحوث العربية – (II)**تطبيقات تكنولوجيا المعلومات في العلوم الاجتماعية**

- 100 - 93 ثقافة توظيف الإنترنت في البحث العلمي الأكاديمي : جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف أنموذجا
ساسبي سفيان

علوم الحياة

- 106 - 101 تحليل تسلسل الحامض النووي لجين *S rDNA 16* لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من إصابات الجروح
رنا مجاهد عبد الله الشويخ، عباس فالح الأرناؤوطي

112 - 107

التركيب النسيجي والمستدق للسان أفعى الماء العراقية *Natrix tessellata tessellata*
أزهار رحيم الفرطوسي، نهلة عبد الرضا البكري، هبة صالح مهدي

121 - 113

مسح للافقاريات المائية في بعض المسطحات المائية في محافظة واسط – العراق
ميسون حسن مشجل السراي

هندسة بيئية

144- 122

مصدر ... المدينة المستدامة
تحليل علمي لاهم تطبيقات الاستدامة في المدينة ومحاولة توظيفها لتحسين الواقع البيئي لمدينة بغداد
هالة حسين موسى

ENGLISH SECTION

Salt tolerance of Jordanian tomato landraces at seedling stage

Basma M. M. Alabbadi (1) and Ibrahim M. Makhadmeh (2)

(1) National Center for Agricultural Research and Extension (2) Dept. of Plant Production / Faculty of Agriculture/ Jordan University of Sciences and Technology
Hashemite Kingdom of Jordan

E- mail: basmaalabadi@yahoo.com

ABSTRACT

Tomato (*Lycopersicon esculentum*) is one of the major vegetable crops grown in Jordan. Many Jordanian tomato landraces are still grown in small farms due to quality and special consumer demands. In this study, thirty nine (39) tomato landraces were exposed to three salinity levels (without salinity, 4 and 6 dS m⁻¹) at seedling stage using NaCl. The results showed that increasing salinity to 6 dS m⁻¹ caused death to 64% of the seedlings of all tomato accessions. Fourteen seedlings accessions were alive and highly varied in their influenced to salinity for fresh and dry shoot and root weights, shoot and root growth rates. Accession 24 (Jo970) showed the highest tolerance to salinity at seedling stage, while the accession 37 (Jo957) was the most sensitive to salinity.

Keywords: Tomato (*Lycopersicon esculentum*), landraces, salinity

الملخص باللغة العربية

يعتبر محصول الطماطم (*Lycopersicon esculentum*) من المحاصيل الرئيسية في الأردن . ولا زالت العديد من أصناف الطماطم المحلية تزرع على نطاق ضيق في المزارع الصغيرة لجودتها ولرغبة بعض المستهلكين. في هذا البحث تم تعريض 39 سلالة من الطماطم المحلية للإجهاد الملحي في مرحلة البادرة باستخدام ثلاثة مستويات من ملوحة (بدون ملوحة و 4 و 6 ديسيمنز/متر) . أظهرت النتائج أن زيادة الملوحة في مرحلة البادرات أدت إلى موت 64% من بادرات كافة السلالات، وتباينت بقية بادرات السلالات بدرجة كبيرة في درجة تأثرها بالملوحة، من حيث الوزن الطري والجاف، ومعدل نمو المجموعتين الخضري والجذري. وكانت السلالة 24(Jo 970) الأكثر تحملاً للملوحة في مرحلة البادرات، في حين كانت السلالة 37(Jo957) الأقل تحملاً.

INTRODUCTION

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is an annual herbaceous plant belongs to the Solanaceae family. It is one of the most important vegetable crops in many countries including Jordan. The average annual area planted with tomato during 2001-2005 in Jordan was 9.1 thousand hectares with an average production 426.9 thousand tons (1). Most of tomato cultivars grown in Jordan are hybrids with high water and fertilizer requirement and low tolerance to environmental stresses. However, tomato landraces which is less sensitive to environmental stresses and grown mainly under rain fed condition are still grown in small farms due to, quality and special demand of some consumers. These landraces are valuable sources of genetic characteristic, which is of plant breeders interest to include in breeding programs for crop improvement. Since 1983, seed samples of tomato landraces were collected from local farmers throughout the country and conserved in the gene bank of the National Center of the Agricultural Research and Extension (NCARE). High variations in vegetative and reproductive traits of these landraces were recorded (2). These variations were expected due to the fact that these landraces were collected from different regions and different farmers. Tomato in Jordan is transplanted in nurseries and grown in open field or under greenhouses (3). The shortage of good quality water in local resources is becoming an important issue. For this reason, the use of available saline water become important and should receive immediate consideration.

Tomato acts as a model crop for the use of saline and poor quality water because of the wealth of knowledge available on physiology and genetics of this species (4). It has been catalogued as moderately sensitive to salinity at all stages of plant development, and as a result, tomato yield is reduced under salt stress (5). Guerrier (6) pointed out that tomato species have significant difference in salt tolerance. Foolad and Lin (7) showed that wild tomato species are more salt tolerant than cultivated tomato. Generally, salt tolerance is increased with plant age (8). Commercial tomato cultivars are most vulnerable to salinity at early seedling growth stages (9). Al-karaki (10) found that increasing level of salinity had negative effect on tomato growth. Plants grown under saline conditions are subjected to different types of stresses including water stress caused by osmoticum, mineral toxicity, and disturbance in the mineral nutrition of the plant (11-13). Cuartero and Fernandez-Munoz (4) reported that plants showed adaptive responses to salinity. While Franco et al. (14) reported that plants could survive under salty conditions expressing their pre-existing genetic information for tolerance. Early application of salt can induce salt adaptation in some tomato cultivars (15). Tomato landraces response to different level of salt is expected.

The present study aimed to examine the effect of three levels of NaCl salt stress at tomato landraces seedling stage.

MATERIALS AND METHODS

Thirty-nine (39) tomato landraces from Jordan were used in this study (table 1). Seeds of these landraces were provided by the National Centre for Agricultural Research and Extension (NCARE) Amman, Jordan. The experiment was conducted at the glasshouse of Jordan University of Science and Technology (JUST). Twenty-two seeds from each tomato landraces were sown directly in polystyrene trays (209 cells) filled with peatmoss and perlite (2:1). One seed were sown in each cell and each trays received 1 ml of liquid fertilizer (20:20:20) with 1L of salinity treatment (control, 4 dSm⁻¹, 6 dSm⁻¹) immediately after sowing then covered with plastic sheet. Four days after sowing, the trays were placed on suspended support. The experiment was carried out under greenhouse condition using completely randomized design with three replicates. Plants were harvested after they had been grown for 45 days. For each treatment, 5 plants were chosen randomly from each replicate and separated into shoots and roots to determine fresh and dry weights. Shoots and roots were oven dried at 65° C for 72 hrs.

Table (1): Region of collection and fruit shape of tomato landraces used in the study

Code	Accession No.	Region of Location	Fruit shape
1	111A	Kharja	Rounded
2	111B	Kharja	Rounded
3	960	Shatanah	Slightly flattened
4	951	Al'al	Rounded
5	952	Al'al	Rounded
6	956	Hebras	Flattened
7	995	Wadi-Musa	Flattened
8	972	Rhaba	Rounded
9	973	Rhaba	Flattened
10	967A	Rhaba	Flattened
11	967B	Rhaba	Flattened
12	971A	Rhaba	Flattened
13	971B	Rhaba	Rounded
14	961	Ain Jannah	U shape
15	979	Rhaba	Flattened
16	988	Ain Al-Baida	Flattened
17	989	Ain Al-Baida	Flattened
18	968	Rhaba	Rounded
19	958	Sakib	Flattened
20	974A	Rhaba	High round
21	974B	Rhaba	Slightly flattened
22	994A	Shoubak	Flattened
23	978	Rhaba	Slightly flattened
24	970	Rhaba	Rounded
25	969	Rhaba	Flattened
26	981	Afra	Flattened
27	991A	Ain Al-Baida	Rounded
28	991B	Ain Al-Baida	Rounded
29	964	Rhaba	Flattened
30	959	Anjara	Slightly flattened
31	976	Rhaba	Flattened
32	975	Rhaba	Flattened
33	963	Rhaba	Rounded
34	985	Ain Al-Baida	Flattened
35	986	Ain Al-Baida	Flattened
36	987	Ain Al-Baida	Flattened
37	957	Hebras	Rounded
38	955	Qasfa	Slightly flattened
39	980A	Afra	Rounded

Relative reduction of shoot or root = [shoot (root) fresh weight at control - shoot (root) fresh weight at salinity treatment / shoot (root) fresh weight at control]*100

Growth rate of shoot (root) = shoot (root) fresh weight / 45 days

Relative reduction of shoot (root) growth rate = [shoot (root) growth rate at control - shoot (root) growth rate at salinity treatment / shoot (root) growth rate at control]*100

In this experiment, at salinity level 4 dS m⁻¹ only 34 landraces were survival and 14 landraces were survival at salinity level 6 dSm⁻¹. Relative reduction of each level was determined compared with control. Data were statistically analyzed using the Genstat program six edition. Means were separated according to LSD (0.05).

RESULTS

Results showed that hoot and root growth rates of the tested tomato landraces were decreased significantly with increasing salinity when compared to the control (tables 2 and 3). At 4 dS m⁻¹ salinity level, the lower relative reduction in shoot fresh weight is 22% for accession 21(Jo 974A) where as the highest relative reduction was 69% for accession 1(Jo111A). At salinity level 6 dS m⁻¹, the lowest relative reduction in shoot fresh weight was 51% for accession 24(Jo 970), while the highest relative reduction was 76% for accession 37(Jo 957).

The lowest relative reduction in root fresh weight at 4 dS m⁻¹ salinity was 38% for accession 36 (Jo 987) while the highest relative reduction was 90% for accession 25(Jo 969). At 6 dS m⁻¹ salinity level, the lowest relative reduction in root fresh weight was 87% for accession 24(Jo 970) where as the highest relative reduction was 97% for accession 33(Jo 963). At salinity level 4 dS m⁻¹, the lowest relative reduction in shoot dry weight was 19% for accession 21(Jo 974A), whereas the highest relative reduction was 68% for accession 1(Jo111A). At 6 dS m⁻¹ salinity level, the lowest relative reduction in shoot dry weight was 50% for accession 39(Jo 980A), while the highest relative reduction was 76% for accession 37(Jo 957).

The lowest relative reduction in root dry weight at 4 dS m⁻¹ was 28 % for accession 23(Jo 978), while the highest relative reduction was 83% for accession 29(Jo 964). At 6 dS m⁻¹ salinity level, the lowest relative reduction in root dry weight was 56% for accession 24(Jo 970), where as the highest relative reduction was 80% for accession 36(Jo 987).

In this experiment the lowest relative reduction in shoot growth rate at 4 dS m⁻¹ salinity level was 24% in accession 19(Jo 958), while the highest relative reduction was 83% for accession 29(Jo 964). At 6 dS m⁻¹ salinity level, the lowest relative reduction in shoot growth rate was 51% for accession 24(Jo 970), where as the higher relative reduction was 76% for accession 37(Jo 957). The lowest relative reduction in root growth rate at 4 dS m⁻¹ salinity level was 24% for accession 21(Jo 974A), while the higher relative reduction was 84% for accession 28(Jo 991B). At 6 dS m⁻¹ salinity level, the lowest relative reduction in root growth rate was 44% in accession 23(Jo 978), while the highest relative reduction was 83% for accession 33(Jo 963).

Table (2): Relative Reduction (R.R.) in shoot and root fresh and dry weights, shoot and root growth rates in response to 4 dS m⁻¹ salinity level

Landrace	R. R. Shoot		R. R. Root		R. R. Growth rate	
	Fresh weight	Dry weight	Fresh weight	Dry weight	Shoot	Root
1	69	68	74	60	70	75
2	55	52	57	76	55	52
3	60	59	60	62	60	54
4	100	100	100	100	100	100
5	62	56	80	63	62	80
6	47	48	71	63	46	68
7	100	100	100	100	100	100
8	65	66	75	63	65	76
9	32	38	44	42	32	44
10	100	100	100	100	100	100
11	49	49	59	71	50	50
12	49	43	66	43	49	70
13	50	51	68	57	50	66
14	66	54	65	58	66	64
15	55	46	61	37	56	59
16	100	100	100	100	100	100
17	37	46	64	76	50	64
18	28	33	59	42	43	59
19	24	22	54	41	24	57
20	45	44	60	73	44	58
21	22	19	71	50	29	24
22	54	67	58	62	54	49
23	44	53	40	28	43	33
24	49	45	55	42	56	71

25	57	53	90	67	52	79
26	66	47	78	72	67	67
27	44	49	56	63	44	57
28	62	56	67	66	65	84
29	64	63	80	83	83	80
30	32	56	53	52	31	58
31	55	53	69	63	54	67
32	57	51	60	39	66	71
33	43	44	62	50	43	57
34	40	39	62	54	42	72
35	100	100	100	100	100	100
36	52	53	38	62	53	43
37	48	52	45	67	48	63
38	67	62	51	66	66	58
39	37	46	44	45	37	38
LSD P 0.05	35	32	33	31	33	35

Table (3): Relative Reduction (R.R.) in shoot and root fresh and dry weights, shoot and root growth rates in response to 6 dS m⁻¹ salinity level

Landrace	R. R. Shoot		R. R. Root		R. R. Growth rate	
	Fresh weight	Dry weight	Fresh weight	Dry weight	Shoot	Root
1	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100	100
4	100	100	100	100	100	100
5	100	100	100	100	100	100
6	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100
9	100	100	100	100	100	100
10	100	100	100	100	100	100
11	100	100	100	100	100	100
12	100	100	100	100	100	100
13	100	100	100	100	100	100
14	100	100	100	100	100	100
15	100	100	100	100	100	100
16	100	100	100	100	100	100
17	100	100	100	100	100	100
18	100	100	100	100	100	100
19	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100
21	68	64	94	62	69	70
22	100	100	100	100	100	100
23	70	62	92	68	70	44
24	51	52	87	56	51	71
25	61	60	93	69	61	71
26	100	100	100	100	100	100
27	100	100	100	100	100	100
28	100	100	100	100	100	100
29	61	54	95	70	60	67
30	60	58	93	60	60	64
31	66	62	94	67	66	71
32	59	52	93	60	59	60
33	73	71	97	78	72	83
34	54	51	93	66	53	73
35	100	100	100	100	100	100
36	73	70	96	80	73	81
37	76	76	94	76	76	66
38	72	70	90	63	72	59
39	65	50	90	59	69	53
LSD P 0.05	22	23	6	27	21	23

DISCUSSION

Salinity is currently one of most severe biotic factor limiting agricultural production. Plants are subjected through their life cycle to different stresses; some of these plants can tolerate these stresses in different ways depending on plant species and the type of stress. Salinity affects some major processes such as growth (16). In this study,

tomato landraces exhibited significant difference among each other at each salinity level during seedling growth, this possibly due to high genetic variation among them. Shoot and root growth decreased with increasing salinity and it was vary among tomato landraces. These results are in agreement with the finding of other researchers (17,18), who attributed this reduction in shoot and root growth under salinity to lower osmotic

potential in the medium which decrease water content in the root and in the shoot, or to ion toxicity (19). Dumbroff and Cooper (20) reported that, in seedling stage of development, the younger the salinised seedling, the less the shoot growth.

Reduction in root growth is a common response to increasing salinity (17,18). Different reasons are possible for the reduction in root growth under salinity: cell growth restriction because of low water potential in the external medium, interference of the saline ions with the plants nutrition or the toxicity of accumulated ions leading to cell death (4). Cuartero and Fernandez-Munoz (4) stated that tomato root growth was less affected by salinity than shoot growth.

Bolarin *et al.* (8) indicated that the reduction in shoot dry weight is starting below 6 dS m⁻¹ in tomato plant. Reduction in shoot dry weight not attributed to the reduction in the number of leaves, this occurs only at EC above 6 dS m⁻¹ (21) but attributed to reduction in leaf area (22).

Root dry weight was decreased among landraces, different reason is possible: cell growth restriction, because of low water potential of external medium; interference of saline ions with plant nutrition or toxicity of accumulated ions. Similar outcome was obtained by Compos *et al.* (23), dry weight of root reduced by water salinity (1, 2, 3, 4, 5 dS m⁻¹) in tomato plant.

The reduction in shoot and root dry weight due to increase salinity might be a result of a combination of osmotic and specific ion effects of Cl and Na (24). In general, salinity inhibited more shoot dry weight than root dry weight which reveals the ability of the plants in maintaining a higher root surface for water uptake, in response to the reduction of the osmotic potential of the soil solution (23).

Growth rate among landraces was reduced in response to salinity and this might be due to the reduction in photosynthetic rate as reported by (4). Growth rate of *L. esculentum* cultivar (VF 36) were reduced under salinity compared to salt tolerant species of *L. cheesmanii* (25).

REFERENCES

1. Department of Agricultural Statistic. (2005). Directory of Economics and Agriculture policy, Ministry of Agriculture. Amman, Jordan. Annual report.
2. Qaryouti M.; Hamdan H.; Edwan M.; Hurani O. and Dabas M. (2007). Evaluation and characterization of Jordanian tomato landraces. *Dirasat Agri. Sci.* 34(1-2): 44-56.
3. Ministry of Agriculture. (1998). Department of Agricultural economics. Annual report. Jordan.
4. Cuartero J. and Fernandez-Munoz R. (1999). Tomato and salinity. *Sci. Horti.* 78: 83-125.
5. Lim P. and Ogata T. (2005). Salinity effect on growth and toxin production of four tropical *Alexandrium* species (Dinophyceae). *Toxicon.* 45: 699-710.
6. Guerrier G. (1998). Proline accumulation in salt-treated tomato: different proline precursors in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennelli*. *J. Plant Nutr.* 21:505-513.
7. Foolad M. and Lin G. (1997). Genetic potential for salt tolerance during germination in *Lycopersicon* species. *Horti. Sci.* 32:296-300.
8. Bolarin M.; Perez-Alfocea F.; Cano E.; Estan M. and Caro M. (1993). Growth, fruit yield, and ion concentration in tomato genotypes after pre- and post-emergence salt treatments. *J. Amer. Soc. Horti. Sci.* 118:655-660.
9. Maas E. (1986). Salt tolerance of plants. *Appl. Agri. Res.* 1:12-26.
10. Al-Karaki G. (2000). Germination of tomato cultivars as influenced by salinity. *Crop Res.* 19: 225-229.
11. Schwarz D. and Kuchenbuch R. (1998). Water uptake by tomato plants grown in closed hydroponic system dependent on the EC-level. *ISHS Acta. Horti.* 458:323-327.
12. Shannon M. (1985). Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Plant. Soil.* 89: 227-241.
13. Perez-Alfocea F.; Balibrea M.; Cruz A. and Estan M. (1996). Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant. Soil.* 180:251-257.
14. Franco J.; Perez-Saura P.; Fernandez J.; Parra M. and Garcia A. (1999). Effect of two irrigation rates on yield, incidence of blossom-end rot, mineral content and free amino acid level in tomato cultivated under drip irrigation using saline water. *J. Horti. Sci. Biotechnol.* 74: 430-435.
15. Cano E.; Perez-Alfocea F.; Moreno V. and Bolarin M. (1996). Response to NaCl stress of cultivated and wild tomato species and their hybrids in callus cultures. *Plant Cell Report.* 15: 791-794.
16. Parida A.; Das A. and Mittra B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove (*Bruguiera parviflora*). *Trees.* 18: 167-174.
17. Aranda R.; Soria T. and Cuartero J. (2001). Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant. Sci.* 160:265-272.
18. Hajer A.; Malibari A.; AL-Zahrani H. and Almaghrabi OA. (2006). Response of three tomato cultivars to sea water salinity 1. Effect of salinity on the seedling growth. *Afr. J. Biotechnol.* 5: 855-861.
19. Bani-Aameur F. and Sippl-Michmerhuizen J. (2001). Germination and seedling survival of Argan (*Argania spinosa*) under experimental saline conditions. *J. Arid. Envir.* 49:533-540.
20. Dumbroff J. and Copper A. (1974). Effects of salt stress applied in balanced nutrient solutions at several stages during growth of tomato. *Botan. Gazette.* 135(3): 219-224.
21. Cruz V. and Cuartero J. (1989). Desarrollo vegetativo de cuatro especies de *Lycopersicon* en condiciones de estres salino. *Acta. Horti.* 3:15-20.
22. Van Iepern W. (1996). Effects of different day and night salinity levels on vegetative growth, yield and quality of tomato. *J. Horti. Sci.* 71:99-111.

23. Campos CA.; Fernandes PD.; Gheyi H. and Blanco FF. (2007). Production of tomato seedlings under saline irrigation. *Caatinga*. 20 (2): 32-38.
24. Al-Rwahy S. (1989). Nitrogen uptake, growth rate and yield of tomatoes under saline condition. PhD. Thesis. University of Arizona. Tucson. P.:118.
25. Rush D. and Epstein E. (1976). Genotypic response to salinity: differences between salt-sensitive and salt-tolerance genotypes of the tomato. *Plant Physiol.* 57:162-166.

Effect of *Citrullus Colocythis* water and alcoholic extracts on the viability of Old World Screw worm (OWS) *chrysomya bezzaina* fly

Mushtag A. M. A. Al- Helfi, Nasir A. A. Almansour and Mufeed A. L. Habeeb

Dept. of Biology / College of Sciences / University of Basra / Republic of Iraq

E –mail: drmushtagalhelfi@yahoo.com

ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the effects of aqueous and alcoholic extracts of *Citrullus Colocynthis* on the larvae of OWS fly. Results showed that the cold-water extracts gave a high mortality (89.444%) more than hot water extracts mortality (86.111%). The results of alcoholic extract of *Citrullus Colocynthis* showed 100% mortality in larvae in each instars. Many concentrations of extracts were prepared (0.1,0.5,1.0) and yielded improvement of chemicals plant compounds (alkaloids, phenols, tannins , resins and oils). This study is concered as a first investigation in Iraq to treat myiasis wounds infested by larvae of old world screw worm by natural plants products instead of chemical insecticides.

Keywords: OWS fly, Natural products, water and alcoholic extracts, *Citrullus colocynthis*

المخلص باللغة العربية

سعت هذه الدراسة إلى اختبار تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الحنظل وأثره على حيائية الأطوار اليرقية لذبابة العالم القديم كرايسوما بزيانا. أوضحت النتائج أن المستخلص المائي البارد أعطى أفضل نسبة هلاك للأطوار اليرقية بلغت معدلها (89.444%) ، بينما بلغت نتائج معدل نسب الهلاك للمستخلص المائي الساخن (86.111%). كما أوضحت نتائج استخدام المستخلص الكحولي لنبات الحنظل أن نسبة الهلاك للأطوار اليرقية بلغت 100% ولكافة التراكيز المحضرة (0.1, 0.5, 1.0) ملغم/مل. وتم الكشف عن المواد الكيميائية الداخلة في تركيب الحنظل، ووجد أنه يحتوي على (القلويدات، الفينولات، الصابونين، التنينات، الرايسين والزيوت). وتعد هذه الدراسة الأولى من نوعها في العراق التي تسهم في إيجاد طريقة فاعلة لمعالجة الجروح الخاصة بالتدويد ببرقيات الذبابة الحلزونية للعالم القديم باستخدام النواتج الثانوية النباتية بدلا من المواد الحشرية الكيميائية.

INTRODUCTION

The old world screw fly (OWS) *Chrysomya bezziana* Villeneuve (1914) is a member of the insect family Calliphoridae and is a blood obligate parasite of worm-blood animals in the tropics and sub-tropics (1). *Chrysomya bezziana* larvae causes cutaneous myiasis (strikes) on host, which results in loss of condition; maiming, infertility and death of the host (2-5). There were 120,789 cases of OWS in Iraq recorded in animals and 22 cases in human until 2007 (6). *Chrysomya bezziana* larvae causes myiasis, which can be defined as infection of live tissues of human and animals by larvae of OWS *Chrysomya bezziana*, Calliphoridae, Diptera, causes damage or death (1,2,4). In Basra province, there are many cases of OWS *Chrysomya bezziana* reported in dogs, camel, buffalo, cattle, sheep and horses (1,7-9). Plant water extract was used in subterranean termites, as insecticide instead of chemical method (10). In addition, the extraction of *Citrullus colocynthis* is used to control the larvae of sarcophagi haemorrhoidalis (11). The extracts of *Ricinus* and *Peganum harmala* are used on instars of mosquito *Culex pipiens molestus* (13). The effects of some plant extractions on the mortality of the larval mosquitoes *Culex pipiens molestus* was studied by (13). Classical chemical insecticides had harmful effects both on environment and human health. This requires use of natural plant products as substitutes, which give a good result to treat sucker plant insects (14). Natural products are also used as antibacterial agents (15). Secondary compound extract showed good effect on activity of *Muscadomastica* fly (16).

MATERIALS AND METHODS

Preparation of aqueous extracts

Citrullus Colocynthis fruits were collected from Al-Rumela city, west of Basra province, Iraq, then washed carefully to remove any suspicious particles from sand or others, then dried under sun light. Philips machine was used for crushing and grinding dry plant (5). Thirty (30) gm of dried powder of plants were put in a 1000ml flask containing 500 ml cold water and normal saline mixed together by move magnetic for 15 sec. Then the sample was left for 24 hrs to be mixed carefully. The mix was filtered and transmitted to a sterile tube, then suspended to centrifuge with 300 circle / min. The supernate was collected and moved to oven at (45C) for dryness and then kept in refrigerator until use. One mg of crude (dry plant) was solved in 100 ml distilled water to have concentration 1% as stock, and 0.1%, 0.5% were prepared from this stock. Hot water method is only different from the above method by adding hot water instead of cold water. Larvae of *Chrysomya bezziana* OWS were prepared in the laboratory from infested lamb as a culture. Forty eight (48) Petri dishes were prepared for each and concentrated in triple dishes, with three dishes as control for each instar and each

concentration. Ten (10) larvae were put in each dish and the extractions were added to each one with different concentrations and different instar with control use too. Fresh sheep liver (50 gm) were used as a supplement food for larvae of OWS to growth. All dishes were incubated in the cold incubator at entomological laboratory for 24 hrs at 25 C.

Preparation of alcoholic extract

Thirty (30) gm of dry powder of *Citrullus colocynthis* fruits were kept in a thimble and fixed in Soxhlet extracts apparatus. A glass containing of 300 ml ethyl Alcohol was heated for 24 hrs at 50 C. Alcoholic extracts were transmitted to the rotary evaporator to get a pure crude, which then was dried and put into black serial glass and then kept in the refrigerator. One (1) mg of crude was diluted by adding 99 ml of distal water to have 1 % and then diluted to 0.1, 0.5 (17).

Statistical analysis

Data were based on completed randomized design by using variance with coefficient limits of $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Results showed that the mean value of killed larvae of *Citrullus Colocynthis* in cold water extraction (89.444) was prerogative than the mean value of killed larvae of *Citrus Colocynthis* in hot water extract (86.111) (tables 1 and 2). Three concentrations were used in the study (0.1, 0.5, 1.0) mg/ml of distilled water and the percentage of mean killed larvae showed (80%, 96.666%, 95.666%) respectively for cold water extraction, compared with the mean of same concentrations and same extractions of plant in hot water extraction (71.666%, 91.666%, 95.000%) respectively. Results also showed that alcoholic extracts showed mortality percentages for all instars larvae in all concentrations (table 3). There were a significant degree under $p < 0.05$ statistically. The first instar larva for all concentrations and for cold and hot water extractions showed % mortality more susceptible to alcohol, and this result was in agreement with those concluded by (18,19). Chemical compound extracts were detected (table 4).

Table (1): Effects of Secondary compounds of *Citrullus colocynthis* in cold water extract in larvae instars of (OWS) *Chrysomya bezziana*

% Mean mortality rate conc.	% Mortality rate in instar						% conc. Mg \ ml
	3 rd ins	control	2 nd ins.	Control	1 st inst.	control	
80.000	40	0	100	0	100	0	0.1
96.666	90	0	90	0	100	0	0.5
91.666	75	0	100	0	100	0	1.0
89.444	68.33	0.00	96.67	0.00	100.00	0.00	% Mean mortality rate as inst.

R.L.S.D To con.=34.65, R. L. S. D TO inst.= 21.43, P=0.05,
 p To conc. = 0.001, p To inst. = 0.02 Cons. * inst. =5.72

Table (2): Effects of secondary compounds of *Citrullus colocynthis* hot water extract in larvae instars of OWS *Chrysomya bezziana*

% Mean mortality rate conc.	% Mortality rate in instar						% conc. Mg \ ml
	3 rd inst	Control	2 nd inst.	Control	1 st inst.	Control	
71.666	65	0	50	0	100	0	0.1
	65		50		100		
	65		50		100		
91.666	75	0	100	0	100	0	0.5
	85		90		100		
	95		80		100		
95.000	75	0	100	0	100	0	1.0
	85		100		100		
	95		100		100		
86.111	78.33	0.00	80.00	0.00	100.00	0.00	% Mean mortality rate as inst.

R. L. S. D TO con.= 36.53, R.L.S.D To inst. = 28.84, P=0.05
 P To con. = 0.001, P To inst.= 0.006 , Cons. * inst.=5.65

Table (3): Effects of secondary compounds in alcoholic extract of *Citrullus colocynthis* in larvae instars of OWS *Chrysomya bezziana*

% Mean mortality rate conc.	% Mortality rate in instar						% conc. Mg \ ml
	3 rd ins	control	2 nd ins.	Control	1 st inst.	control	
100.000	100	0	100	0	100	0	0.1
100.000	100	0	100	0	100	0	0.5
100.000	100	0	100	0	100	0	1.0
	100.000	0.00	100.000	0.00	100	0.00	% Mean mortality rate as inst.

R.L.S.D. To con.= 0.063, R.L.S.D. To inst. =27.755, P < 0.05
 P To con.=0.001, P To inst.= 0.001, Cons. * inst.=0.00

Table (4): Detected chemical compounds of *Citrullus colocynthis*

Plant	Alkaloid reagents	Phenols reagents	Saponins reagents	Tannins reagents	Resins reagents	Oil reagents
<i>Citrullus colocynthis</i>	+	+	+	+	+	+

No toxicity was observed on experimental rates for all plant extracts, and thus this result was in agreement with (20) who showed that the cold extract of *Citrullus colocynthis* at 16% conc. gave better result of mortality rate than hot water extract

on *Ch. bezziana* larvae instar . Cold water extracts of *Chrysanthemum cinerrainfolium* demonstrated more effect in mortality on adults of *Tribolium castaneum* than hot water extracts (21). Persisting of enzymes in cold water plants extracts for long time without analysis produced new materials or may cause changing in activity of natural product compounds to be more active (22). The first and

second instar larvae are more sensitive to toxic substances of plants extracts than third instar, by which it can change the toxic compounds in extract to intoxic by special enzymes (M.F.O.), which the first and second instars can not yield because they lack these enzymes (23). In previous study, it was proved that the first and second instars were more effective to plants extracts due to their thin layer of cuticles (24), in addition to that the high mortality in alcoholic extract than water extract were due to alcohol extract all active compound in the plants, that's intone whit present results. Many investigators demonstrated that the alcoholic extracts were hard effective on larvae instars of *Chrysomya bezziana*, *Trogoderma granarium*, *Aphis fabae* and *Aphis gossypii* (20,25,26).

REFERENCES

1. Al-Helfi MAM. (2001). Taxonomy and ecological studies on medical insect (order: Diptera) caused myiasis in Basra province, with mention to its control. Master thesis. College of Sciences. University of Basra, Iraq.
2. Humphery JP and Tozer RS. (1980). *Chrysomya bezziana*: pathology of OWS fly infestation in cattle. Exper. Patholo. 49:381-397.
3. Norris KR. and Murray MD. (1964). Csiro division of Ent. Technical paper number 6. Canberra, Australia.
4. Spradbery JP. and Vannia SJ.(1980). Incidence of the screw worm, *chrysomya bezziana* of zoo Negara, Malaysia. Malaysian Vet. J. 7:28-32.
5. Al-Mansour NA. (1995). The effect of different extracts of *Ibcella lutea* (Staph.)Van Eslet. (*Martyni acaciae*) in the biological performance of white fly *Bemisia tabaci* (Genn.) (*Homoptera: Aleyrodidae*). PHD. Thesis . University of Basra. Iraq. P. 124.
6. Al-Ainy MA.(1997). *Chrysomya bezziana* in Iraq, thread animals at Arab East. Agri. J. Arab Area. 1:24-29.
7. Al-Helfi MAM. (2008). *Chrysomya bezziana* fly in dog threat Basra south of Iraq. Bas.J. Vet. Res. 7(1): 26-30.
8. Al-Helfi MAM. (2008). Environmental study to OWS fly in Buffalo in Basra marsh. Mesopotamia. J. (special issue).
9. Al-Helfi M.; Al-Jassim K. and Al-Salem Z. (2012). A case report of cutaneous myiasis by *chrysomya bezziana* (OWS) in camel at Basra province. Bas. J. Vet. Res. 11(2): 108-112.
10. Al-Mansur NA.; Kadhim SA. and Sanaa JT. (2006). Affection of some plants water extracts on the worker of subterranean termites. Bas. Sci. J.(B). 24(1): 40-56.
11. Al-Mansur NA. and Alaa NA. (2010). Control the larval and pupil stages of meat fly sarcophagi haemorrhoidalis (fallen) (Sarcophagidae :Diptera) by using the phenol and alkaloid extracts of *citrullus colocynthis*. Bas. J. Res. (Sci.) 36(8):44-56.
12. Mahdi NAGMH. (2010). The effects of aqueous extracts and organic solvents of *peganum harmala* and *ricinus communis* on the different instars of mosquito *culex pipensmoletus*. J. Tikrit. Univ. Agri. Sci. 10(2):119-128.
13. Myah ARAA.; Al-Mansour N. and Al-Dhahir AHS. (2011). Effect of plant extracts on the mortality of the larval mosquitoes *culex pipens moletus forskl.* Bas. J. Sci. (B). 29(1): 47-61.
14. Abass HM.; Aseel TG.; Hend WS.; Suham F.; Muhamed Z.K.; Adnin HS.; Basim HH. and Umer AM. (2013). Synthetic preparation of plants extraction against sucking parsing insects. Al-Nahrain Coll. J. 16(3): 1-5.
15. Al-Jaber GTN. and Al-Mssawi A. (2008). Antibacterial activity of alliums copal. and frank eniapul verulental extracts. Basra Nursing College. Iraq.
16. Akbar MA.; Nasir AM. and Alaa N. (2011). The effect of organic solvent extraction and secondary compound extract on the biology of house fly *muscadomastica* (muscidae :diptera). Basra. Res. J. 37(2): 101-116.
17. Al- Mansour NA.; Al-Zuubaidi F. and Sadaw I. (1997). Bioactivity of unicorn *Ibcella lutea* (Staph.)Van Eslet, solvent extracts to *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) (*Homoptera:Aleyrodidae*). J. Babylon. Univ. 2(3):279-283.
18. Al-Mansour NM. and Akbar MM. (2013). The effect of some plant extracts in biology of *Tetranychus urticae* (*Acarina : Tetranychidea*). J. Purity. Util. React. Envir. 2(6):153-159.
19. Al-Ibraheem SAH. (2013). Isolation and identification of some causative agents of *Tinea capitis* and study the effect of the extracts of propolis and some medical plants against *Microsporum canis* Bodin *in vitro* and *in vivo*. PHD Thesis. University of Basra. Iraq.
20. Shappea SHH.(2001). Effects of *Citrullus colocynthis* in some biological aspects of *Chrysomya bezziana* Villeneuve (*Diptera calliphoridae*) OWS. Master thesis. College of Science, University of Kufa. Iraq.
21. Al-Aaragey HA. (2003). Biological evaluation of extracts of *Chrysanthemum cinerainfolium* on(*Tribolium castaneum* Herbst Coleoptera: Tenebrionidea). Master thesis. College of Agriculture , University of Kufa. Iraq. P.: 84.
22. Rockstein M. (1978). Biochemistry of insect. Academic Press. New York, San Francisco, London. P.: 649.
23. Al-Adel KM. and Abed MK. (1979). Chemicals insecticides in protections of plants Master thesis. College of Science , University of Basra. Iraq. P.: 114.
24. Abed Al-Hammed ZH. and Abed Almageed ME. (1988). Moderate Uses of insecticides. First Part. Economic- structure- behavior. Publication & distribution Arabic Dare .Cairo. P.:572.
25. Al-Fatllaye AG. (2005). Effects of *Ricinuscommunis* extract on biological aspects of *Trogoderma granarium*. Master thesis. College of Science, University of Kufa. Iraq.
26. Al Kaffagy AA.; Al-Dorey UK. and Eskander T. (2008). Efficiency of many plants extracts on agriculture pest . 4th International Conference of Statius Research of plants protection. Egypt.

Effects of copper nanoparticles on reproductive organs of male albino rats

Genan A. Al- Bairuty and Mohammed N. Taha

Dept. of Biology / College of Education for Pure Sciences –Ibn Al-Haitham / University of Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: galbairuty@yahoo.com

ABSTRACT

Copper nanoparticles (Cu-NPs) are widely used in various industrial and commercial applications and little is known about their potential toxicity on reproductive system. In the present study, the effect of Cu-NPs on the weight of some reproductive system organs and the sperm characteristics of male albino rats were examined. Rats were administrated with 0.5 ml of 20 and 40 mg/kg/BW Cu-NPs intraperitoneally for 3, 6 and 9 days. The results showed statistically significant decrease in the final body weight and increase in the relative sex organs (testis, epididymis, seminal vesicles and prostate gland) with both Cu-NPs treatments compared to control group. A significant decrease was found in the percentage of sperm viability and increase in the percentage of sperm abnormalities and sperm concentration were observed with both Cu-NPs concentrations compared to the control with concentration and time effects.

Thus, the results of this study revealed for the first time that intraperitoneal injection of Cu-NPs has a negative influence on the effectiveness and activity of male reproductive system in albino rats.

Keywords: Copper nanoparticles, Organs weight, Sperm characteristic, Rats, Testes, Epididymes

الملخص باللغة العربية

تحظى الجزيئات النانوية (Cu-NPs) بشهرة واسعة من خلال استخداماتها في العديد من الصناعات، كما أن لها تطبيقات تجارية كثيرة، ولكن لا تزال المعلومات حول تأثيرها على الجهاز التناسلي غير كافية.

سعت هذه الدراسة إلى الكشف عن تأثير جسيمات النحاس النانوية (Cu-NPs) على أوزان بعض الأعضاء التناسلية ومواصفات النطف في ذكور الجرذان البيضاء.

تم حقن الجرذان داخل البريتون بمقدار 0.05 مل من تركيزين مختلفين من جسيمات النحاس النانوية (Cu-NPs) 20 و 40 ملغم / كغرام / وزن الجسم لمدة 3 6 9 أيام. وقد أظهرت النتائج وجود فروقات إحصائية معنوية تمثلت بانخفاض أوزان الجسم النهائية وزيادة في الوزن النسبي للأعضاء التناسلية (الخصي، البرايخ، الحويصلات المنوية، وغدة البروستات) لكلا الجرعتين من جسيمات النحاس النانوية مقارنة مع مجموعة السيطرة. من ناحية أخرى، انخفضت النسبة المئوية لحيوية النطف إحصائياً مع زيادة ملحوظة في النسبة المئوية لتشوهات النطف وتركيزها لكلا الجرعتين من Cu-NPs مقارنة مع مجموعة السيطرة، وكان التغير في هذه النسب متأثراً بالتركيز ومدة التعرض. وقد خلصت الدراسة للمرة الأولى إلى أن حقن الجسيمات النانوية داخل البريتون في الجرذ له تأثير كبير على نشاط وفعالية الجهاز التناسلي الذكري للجرذ الأبيض.

INTRODUCTION

Nanoparticles are coming into our daily life in excessive quantity. The unique characteristics of nanosubstances, such as size, large surface area, ultrahigh reactivity, and shape effects allow them to produce many specific effects regarding their bulky states (1). Recently, a new form of Cu metal has been engineered containing of nanoscale copper particles (Cu-NPs), which are considered as type of metal-containing nanomaterials (2). Cu-NPs are used in lubricants, polymers/ plastics, textiles, metallic coating, antimicrobial, home appliances, wear resistance and inks, etc (3,4). Therefore, nano copper are likely to distribute in the environment and enter human body via different paths such as effluent, disposal, and consumer products (3) and cause toxicity via pulmonary, oral, nasal, skin or other routes of exposure. Then, nanoparticles can penetrate through cell membrane via blood-brain barrier and blood-testis barrier (5,6) to reach and impact all organs of the body (7). In *In vitro* study, Cu-NPs and CuO-NPs were found to be able to generate oxidative stress (8,9). In fish, Ostaszewska *et al.* (10) found that 0.15 mg L^{-1} of Cu-NPs caused pathological changes in epidermis (irregular structure and pyknotic nuclei), gills (lifting epithelium, fusion of lamellae and epithelial necrosis), and liver (dilation of sinusoid space, pyknotic nuclei and overfilled blood vessels) of *Siberian sturgeon* larvae after 21 days of exposure. Additionally, Al-Bairuty *et al.* (11) found that 20 and $100 \mu\text{g L}^{-1}$ of Cu-NPs caused pathologies in gills, liver, kidney, gut, brain and muscle of rainbow trout after 10 days of exposure. In *in vivo* study, oral administration of Cu-NPs in mice caused injuries in the kidney, liver and spleen (3). However, there are still scarce and controversially evident of effects of Cu-NPs on spermatozoa parameters and other reproductive indices such as organs weight and pathologies. Little is known about the effects of other types of nanoparticles on reproductive organs and sperm characteristic in animals. For example oral administration of $20 \mu\text{g/kg/day}$ silver nanoparticles (AgNPs) caused disorganization of the germinal epithelium with loss of some spermatogenic cells types (spermatocytes and spermatids) and degeneration, necrosis as well as atrophy of the seminiferous tubules after 90 days of exposure (12). Kim *et al.* (13) found that oral administration of AgNPs in male rats caused decline in body weight, accumulation of NPs and enlargement of testis as well as some hepatocyte toxicity after 90 days of exposure. Oral administration of AgNPs in male albino mice caused decrease in the weights of testis and tunica albuginea, epididymis head and tail, and decline in the percentage of sperm vitality and sperm concentrations as well as an increase in the percentage of sperm abnormalities were observed in both testis and epididymis after 5, 10, 15 days of exposure (14). Ema *et al.* (15) had reviewed that nanoparticles are able to penetrate into reproductive tissue through biological barriers and may damage various cells such as reduce sperm numbers, viability and change cell functions, as well as inhibit the embryo development. However, there is a gap information about the effect of intraperitoneal injection of Cu-NPs on the male reproductive

system indices. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of intraperitoneal injection of different doses of Cu-NPs (20 and 40 mg/kg/BW) on body weight, the weight of some organs of male reproductive system, and sperm characteristic in testes and epididymis (head, tail) of albino rats.

MATERIALS AND METHODS

Characterization of copper nanoparticles (Cu-NPs)

The powder of Copper nanoparticles were purchased from Xuzhou Hongwu Nanometer material CO.,LTD. with 20-30 nm size and purity 99.99% (manufacture Hongwunanometer).

Animals and treatments

Male albino rats (197- 200 gms weight and 10-12 weeks old) were obtained from National Center for Control and Pharmaceutical Research /Baghdad/ Iraq and housed in animal house of biological department/ College of Education for Pure Sciences/ Ibn Al-Haitham. Animals were fed with standard commercial pelleted diet and tap water and maintained under a 12:12 h light: dark cycle and room temperature $22\text{--}24^{\circ}\text{C}$. Rats were kept in polycarbonate cages with woodchip bedding and acclimatized to the environment for 2 weeks prior to experimental use. Animals were randomly divided into 3 groups ($n = 54$). The animals were assigned to each experimental group, with 18 animals per group and 6 per day.

Group 1 - Control group of animals were intraperitoneal injected with 0.5 ml of distilled water once a day for 3, 6, and 9 days (each day have 6 animals).

Group 2 –Experimental group of animals were intraperitoneal injected with 0.5 ml of 20 mg/kg/BW Cu-NPs once a day for 3, 6, and 9 days (each day have 6 animals).

Group 3 – Experimental group of animals were intraperitoneal injected with 0.5 ml of 40 mg/kg/BW Cu-NPs once a day for 3, 6, and 9 days (each day have 6 animals).

Preparation of copper nanoparticles

The low (20mg/kg/BW) and high (40 mg/kg/BW) concentrations of Cu-NPs suspensions were prepared by weighting 0.8 and 1.6 g of Cu-NPs powder and diluted with 100 ml of distilled water, then stirred with magnetic stirrer overnight and next dispersed by ultrasonic vibration for 30 min. Before injection, the low and high concentrations of Cu-NPs were vortexed in order to avoid the aggregation of the particles.

Animal weighting, sample collection and preparation

Before and after the end of 3, 6, and 9 days of the exposure duration, six rats were weighted by using a Mettler pc Balance in order to record Initial and final body weights. Then, rats were anaesthetized (using diethyl ether) and sacrificed for samples collection from each groups.

Organs samples

Testis, epididymis (head and tail), seminal vesicle and prostate gland from each rats were collected and weighed by using a sensitive balance. The coefficient-relative organ weights were calculated as organ wet weight, (gm)/body weight of animal *100%).

Evaluation of sperm viability, morphology and concentration

The spermatozoa were collected from the testis and epididymis (head and tail) and examined for live and dead sperms, sperm cell concentration and sperm abnormalities according to (16).

Statistical analysis

All data values were giving as mean \pm standard error (S.E.). The resulting data of the current study was analyzed using the SPSS software, version 21. Data were tested for treatment, time, and treatment \times time interaction effects by using general linear model/multivariate followed by least squares difference post hoc test. When a statistically significant effect was showed by this model, a one

way ANOVA was used to assess for simple effects. The differences were considered significant at level $p < 0.05$.

RESULTS

Effect of Cu-NPs on body weight and coefficient-relative reproductive organs weight

The results exhibited significantly decrease ($P < 0.05$) in the average body weights of animals after 3, 6 and 9 days of injected with 20 and 40 mg/kg Cu-NPs compared to the same animals groups before injected (table 1). Some concentration and time effects were observed in the average body weight after treated with Cu-NPs in this study where there were more significantly decrease in the average body weight of animal injected with 40 mg/kg Cu-NPs for 9 days compared with 20 mg/kg Cu-NPs for 3 and 6 days (table 1). The average body weight of control animals showed a statistically significant increased ($p < 0.05$) after injected with distill water for different periods (6, 9) compared to the same control animal before injected (table 1).

Table (1): Initial and final body weight of rats before and after injected with 20 and 40 mg/kg/BW of Cu-NPs for 3, 6 and 9 days

Treatments	Time/day	Initial body weight before treatment (gm)	Final body weight after treatment (gm)
Control	3 days	200.67 \pm 2.91	206.5 \pm 3.34 a
20 mg/kg Cu-NPs		202.67 \pm 3.99	195.83 \pm 4.02 a
40 mg/kg Cu-NPs		197.00 \pm 3.36	180.00 \pm 3.80 *b
Control	6 days	200.66 \pm 1.81	214.00 \pm 2.47 *a
20 mg/kg Cu-NPs		197.00 \pm 2.69	181.83 \pm 2.81 *b
40 mg/kg Cu-NPs		204.66 \pm 3.44	167.66 \pm 4.36 *c
Control	9 days	199.83 \pm 2.66	222.00 \pm 1.94 *a
20 mg/kg Cu-NPs		198.17 \pm 1.68	167.17 \pm 1.85 *b
40 mg/kg Cu-NPs		197.66 \pm 0.66	146.17 \pm 2.21 *c

Data are mean \pm SEM ($n = 6$ rats/treatment). * Significantly different between initial body weights and final body weights (ANOVA, $P < 0.05$). Values with different letters within column were significantly different (ANOVA, $p < 0.05$). Significantly different between day 3 and 9 at the same treatment (ANOVA, $p < 0.05$). Significantly different between day 6 and 9 at the same treatment (ANOVA, $p < 0.05$). Significantly different between day 3 and 6 at the same treatment (ANOVA, $p < 0.05$).

The coefficient reproductive organs weights (Testis, epididymis head, epididymis tail, seminal vesicle and prostate glands) were statistically significant increased ($p < 0.05$) with both 20 and 40 mg/kg of Cu-NPs at different time points compared to the control groups (table 2). More increasing in the coefficient reproductive organs weights were observed over a long time of exposure. The

coefficient weight of tunica albuginea was statistically significant increased ($p < 0.05$) with high concentration of Cu-NPs at day 9 compared to the control group (table 2). A concentration effect was observed in the coefficient weight of prostate gland and a time effect detected in the coefficient weights of tunica albuginea, epididymis tail and prostate gland (table 2).

Table (2): The coefficient –relative organs weight in albino rats injected with 20 and 40 mg/kg of Cu-NPs for 3, 6 and 9 days

Parameters			Time/ Days	Control	20 mg/kg Cu-NPs	40 mg/kg Cu-NPs
A coefficient-relative organs weights	Testes	Tunica albuginea	3	0.024 ± 0.002 a	0.024 ± 0.001 a	0.024 ± 0.000 a
			6	0.025 ± 0.001 a	0.025 ± 0.000 a	0.027 ± 0.001 a
			9	0.024 ± 0.002 a	0.029 ± 0.002 a	0.035 ± 0.001 b
		Testis tissues	3	0.555 ± 0.025 a	0.576 ± 0.021 a	0.578 ± 0.021 a
			6	0.517 ± 0.009 a	0.578 ± 0.022 a	0.662 ± 0.032 b
			9	0.486 ± 0.057 a	0.677 ± 0.036 b	0.675 ± 0.022 b
	Epididymes	Head	3	0.109 ± 0.005 a	0.113 ± 0.005 a	0.106 ± 0.005 a
			6	0.098 ± 0.004 a	0.114 ± 0.006 b	0.127 ± 0.003 b
			9	0.093 ± 0.008 a	0.128 ± 0.008 b	0.135 ± 0.003 b
		Tail	3	0.078 ± 0.002 a	0.086 ± 0.005 ab	0.105 ± 0.009 b
			6	0.081 ± 0.005 a	0.108 ± 0.003 b	0.125 ± 0.009 b
			9	0.069 ± 0.004 a	0.124 ± 0.007 b	0.118 ± 0.009 b
	Seminal vesicle gland	3	0.271 ± 0.021 a	0.565 ± 0.010 b	0.567 ± 0.033 b	
		6	0.224 ± 0.008 a	0.417 ± 0.041 b	0.626 ± 0.108 b	
		9	0.276 ± 0.012 a	0.592 ± 0.056 b	0.638 ± 0.124 b	
	Prostate gland	3	0.172 ± 0.020 a	0.337 ± 0.057 b	0.313 ± 0.043 b	
		6	0.226 ± 0.006 a	0.410 ± 0.048 b	0.356 ± 0.045 b	
		9	0.142 ± 0.010 a	0.386 ± 0.027 b	0.263 ± 0.030 c	

Data are mean ± SEM (n = 6 rats/treatment). Values with different letters within row were significantly different (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 6 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05) Significantly different between day 3 and 6 at the same treatment (ANOVA, p 0.05)

Effect of Cu-NPs on sperm parameters in testes and epididymis

The effect of daily injected to 20 and 40 mg/kg Cu-NPs for 3, 6 and 9 days on sperm cells life, sperm concentration and sperm abnormalities in testis and epididymes (head and tail) of albino rats were shown in tables (3-5). The percentage of sperm life in the testis and epididymes (head and tail) showed significant decrease (p 0.05) compared to control groups of each treatment and time point with more decreasing with high concentration of Cu-NPs and longtime of exposure (table 3).

The sperm concentrations in the testis and epididymes (head and tail) were exhibited significant increased (p 0.05) with both Cu-NPs concentration compared to the control (table 4). A concentration effects of Cu-NPs were observed in the testis and epididymis tail with less increase with

40 mg/kg Cu-NPs when compared to 20 mg/kg Cu-NPs at the same time point (table 4). The sperm concentration in the testis and epididymis (head, tail) showed a time effect (table 4). Table 5 reveals significant increase (p 0.05) in the percentage of sperm abnormalities in the testis and epididymis head and tail with both Cu-NPs concentrations over longtime of exposure. The elevation of sperm abnormalities in the testis and epididymis (head, tail) showed concentration and time effects with more increasing with high Cu concentration at day 9 when compared to low Cu concentration at day 3 and 6 (table 5).

The sperm abnormalities that observed with both Cu-NPs concentration at day 3, 6 and 9 involved deformed head, detached head, coiled head, coiled tail, curved tail and loss of head spine when compared to normal sperm structure that consist of head with spine, middle piece, and tail (figure 1).

Table (3): The percentage of sperms viability (sperms life) in rats injected with 20 and 40 mg/kg/BW of Cu-NPs for 3, 6 and 9 days

Parameters			Time/Days	Control	20 mg/kg Cu-NPs	40 mg/kg Cu-NPs
Percentage of sperm viability	Testes		3	96.67 ± 0.21 a	66.17 ± 0.47 b	64.33 ± 0.88 c
			6	96.50 ± 0.43 a	63.83 ± 0.31 b	61.67 ± 0.33 c
			9	97.33 ± 0.33 a	60.83 ± 0.48 b	56.17 ± 0.48 c
	Epididymis	Head	3	97.83 ± 0.31 a	64.17 ± 0.48 b	60.33 ± 0.66 c
			6	97.67 ± 0.21 a	61.33 ± 0.33 b	58.17 ± 0.31 c
			9	97.83 ± 0.31 a	59.17 ± 0.31 b	53.67 ± 0.49 c
		Tail	3	98.17 ± 0.31 a	63.67 ± 0.49 b	59.17 ± 0.47 c
			6	98.83 ± 0.17 a	60.17 ± 0.47 b	57.33 ± 0.42 c
			9	98.83 ± 0.17 a	58.50 ± 0.43 b	51.50 ± 0.43 c

Data are mean ± SEM (n = 6 rats/treatment). Values with different letters within row were significantly different (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 6 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05) Significantly different between day 3 and 6 at the same treatment (ANOVA, p 0.05)

Table (4): The sperms concentration in rats injected with 20 and 40 mg/kg/BW of Cu-NPs for 3, 6 and 9 days

Parameters			Time/Days	Control	20 mg/kg Cu-NPs	40 mg/kg Cu-NPs
Sperms concentrations * 10 ³	Testes		3	51979.2 ± 408.8 a	71666.7 ± 2000.4 b	68125.0 ± 2060.3 b
			6	54270.8 ± 987.1 a	54270.8 ± 1254.3 a	57500.0 ± 2212.7 a
			9	51354.2 ± 298.3 a	66562.5 ± 576.2 b	54270.8 ± 746.8 c
	Epididymis	Head	3	26541.7 ± 150.2 a	45958.3 ± 318.9 b	42666.7 ± 333.3 c
			6	31208.3 ± 1309.3 a	32291.7 ± 1918.6 a	31958.3 ± 3159.9 a
			9	26708.3 ± 135.7 a	32041.7 ± 1109.5 b	29916.7 ± 1394.4 b
		Tail	3	30750.0 ± 129.1 a	68291.7 ± 881.3 b	65833.3 ± 1247.8 b
			6	36000.0 ± 766.5 a	36125.0 ± 1938.4 a	50375.0 ± 1311.4 b
			9	34125.0 ± 201.6 a	40541.7 ± 439.8 b	30416.7 ± 1457.3 c

Data are mean ± SEM (n = 6 rats/treatment). Values with different letters within row were significantly different (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 6 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 6 at the same treatment (ANOVA, p 0.05).

Table (5): The percentage of sperms abnormalities in rats injected with 20 and 40 mg/kg/BW of Cu-NPs for 3, 6 and 9 days

Parameters			Time/Days	Control	20 mg/kg Cu-NPs	40 mg/kg Cu-NPs
Percentage of sperms abnormalities	Testes		3	7.83 ± 0.31 a	46.83 ± 0.60 b	57.33 ± 0.49 c
			6	8.17 ± 0.40 a	67.83 ± 0.40 b	76.33 ± 0.67 c
			9	8.33 ± 0.33 a	88.33 ± 0.33 b	95.33 ± 0.33 c
	Epididymis	Head	3	6.50 ± 0.22 a	42.17 ± 0.60 b	54.50 ± 0.42 c
			6	6.83 ± 0.31 a	63.67 ± 0.67 b	73.17 ± 0.79 c
			9	5.67 ± 0.33 a	61.17 ± 0.48 b	70.83 ± 0.47 c
		Tail	3	5.50 ± 0.22 a	40.50 ± 0.43 b	51.17 ± 0.60 c
			6	5.67 ± 0.33 a	61.17 ± 0.48 b	70.83 ± 0.47 c
			9	5.83 ± 0.17 a	82.50 ± 0.50 b	87.17 ± 0.31 c

Data are mean ± SEM (n = 6 rats/treatment). Values with different letters within row were significantly different (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 6 and 9 at the same treatment (ANOVA, p 0.05). Significantly different between day 3 and 6 at the same treatment (ANOVA, p 0.05).

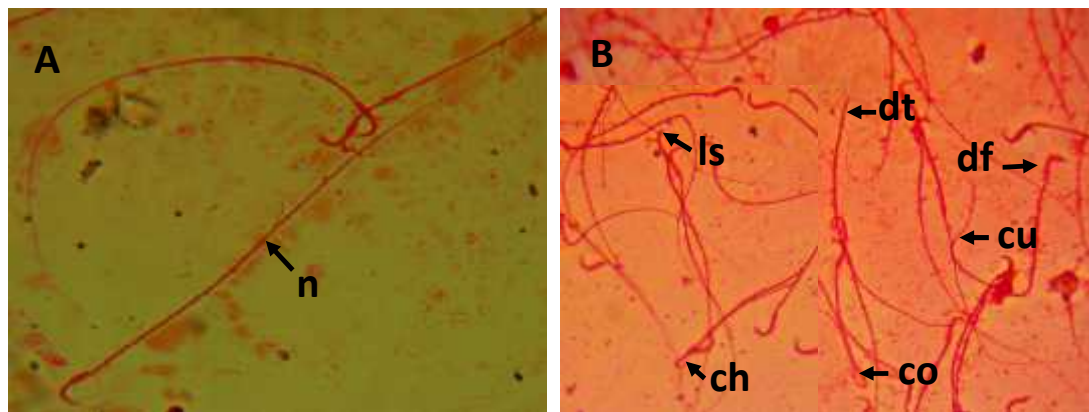


Figure (1): (A) (cu) normal sperm shape and (B) types of sperm abnormalities in rats intraperitoneal injection with 20 and 40 mg/kg Cu-NPs for 9 days. Normal sperm (n) consist of head with spine, middle piece, and tail. The sperm abnormalities involved deformed head (df); detached head (dt); loss of head spine (ls); coiled head (ch); coiled tail (co) and curved tail (cu).

DISCUSSION

Body and reproductive organs weights

Decline in the average body weight reported in this study are consistent with Zhang *et al.* (17), who found that the intraperitoneal injection of gold nanoparticles after 14 days in mice induced a decline in the body weight. The authors suggested that this way of exposure may cause some toxicity. Decreasing the average body weight observed in this study may attributed to the disturbance in different metabolic activity that resulted from intraperitoneal injection. Other types of nanoparticles (25 mg/kg TiO₂ NP) also caused decrease in the rat body weight when intraperitoneal injection (18). Another ways of exposure to nanoparticles also caused decrease in the body weight (13, 17). For example, Kim *et al.* (13) found that oral exposure to 30, 125, and 500 mg/kg of Ag-NPs for 13 weeks in male rats produced a significant decrease ($P < 0.05$) in the bodyweight after 4 weeks of exposure. A study by Zhang *et al.* (17) found that oral administration of 1100 µg/kg gold nanoparticles over 28 days caused a decrease in the body weight and the authors suggested that oral exposure to NPs could produce some effects on the digestive system. The body weight of male albino rats fed 1% and 2% TiO₂ NP showed decline after 65 days of exposure (19).

The results of this work revealed that intraperitoneal injection of 20 and 40 mg/kg Cu-NPs resulted in significant increase in testis, epididymis head and tail, seminal vesicle and prostate glands relative weights compared to control group at all-time point (3, 6 and 9 days). The elevation of relative sex organs weights observed in this study may be related to histopathological changes in sex organs (20) or to the level of serum testosterone that play a major role in the maintenance of structural integrity and functional efficacy of the sex accessory glands (21). Kong *et al.* (20) illustrated that administration of different doses Ni NPs caused increase in the ratio of epididymis weight over body weight and testes pathologies. A study by Bakare *et al.* (22) also found that intraperitoneal administration of 0.5 ml TiO₂ NPs in mice caused pathological changes in the testicular tissue such as congestion of the inter-stitiumoedema, vacuolation and necrosis. Garcia *et al.* (23) found that intravenously injected of 1 mg/kg Ag NPs in mice caused elevation serum and intratesticular testosterone concentration after 15 days of injection.

Sperm parameters

The present study revealed that intraperitoneal injection of 20 and 40 mg/kg Cu-NPs at different time points caused a decrease in the percentage of sperm life in the testis and epididymes (head and tail) with concentration and time effect. This reduction is occur due to the effects of nanoparticles on the germ cells, which lead to disturbance of spermatogenic process. Gromadzka-Ostrowska *et al.* (24) exhibited that nanoparticles have the ability to penetrate the blood-testis barrier and cause toxic effects on male germ cells and reduced sperm quality. A study by Xu *et al.* (25) illustrated

mitochondrial damaging and decline the levels of ATP resulting oxidative stress in the testis, DNA damaging and decrease in the quantity and quality of epididymal sperm in mice injected with 20 mg/kg of silica nanoparticles for 15 and 35 days.

An increase in the percentage of sperm abnormalities and sperm concentration that observed in the current study may be caused due to the effect of Cu-NPs on the sertoli cells function or oxidative stress. The results of this study is in consistence with the suggestion of Kruszewski *et al.* (26) who reported that Ag-NPs could react with cellular DNA and stimulated inflammation, oxidative damage and cellular dysfunction that created genetic mutation and sperm cells with abnormal morphology. In testes, the sperm cells are almost immature, and they are getting mature through passing the epididymides tail (27). Talebi *et al.* (28) found that oral administration of 50 and 300 mg/kg zing nanoparticles for 35 consecutive days caused the presence of vacuoles in the cytoplasm of sertoli cells and affect the function of these cells which led to increase the percentage of sperm abnormalities. Exposure to silver nanoparticles can cause the inflammation and oxidative damage as well as increase the rates of sperm abnormalities and genetic mutations (29). Smith *et al.* (30) found that at 4–8 days post-injection of anatase titanium dioxide nanoparticles in mice induce structural and functional sperm deficiency associated with infertility, and DNA damage via oxidative stress. The oral administration with 200 mg/kg of Ag NPs in mice for 5, 10, and 15 days caused decrease in the percentage of sperm viability and sperm concentration as well as an increase in the percentage of sperm abnormalities that observed in the testis and epididymis (14). In rats, the oral exposure to 100 mg/kg of TiO₂ NPs for 8 weeks also caused decline in the percentage of sperm motility, viability and sperm concentration as well as an increase in the percentage of sperm abnormalities (31).

Generally, the intraperitoneal injection of Cu-NPs could affect immature sperm cells in the testes and mature one that stocked in the epididymis. The reduction in the number of sperm viability, and the elevation of sperm concentration and abnormalities in the testis and epididymis in this study, depending on concentration and time of exposure. However, Gromadzka-Ostrowskaa *et al.* (24) found that a dose-dependent (5 and 10 mg/kg body mass) and time-dependent (24 hrs, 7 and 28 days) decline the sperm count in the rat epididymis, and elevation in number of dead sperms after intravenously administrated with Ag-NPs.

CONCLUSION

The present obtained results demonstrated that copper nanoparticles can be considered as a reproductive toxicant by diminish the number of sperm parameter indices in addition to decline the body weight, which led to a negative effects on the activity of male reproductive system. The effects of nanocopper on reproductive indices are concentration and time-dependent. Further research is needed to clarify exposure by measuring the hormone levels and pathological changes.

RECOMMENDATION

The researchers recommend to study the effect of Cu-NPs on female reproductive system and embryonic development in addition to investigate the effect of these materials on immuno-histo system.

REFERENCES

1. Roduner E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* 35: 583–592.
2. Shaw BJ. and Handy RD. (2011). Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions. *Envir. Int.* 37: 1083-1097.
3. Chen Z.; Meng H.; Xing G.; Chen C.; Zhao Y.; Jia G.; Wang T.; Yuan H.; Ye C.; Zhao F.; Chai Z.; Zhuc C.; Fang X.; Mac B. and Wan L. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol. Lett.* 163: 109–120.
4. Brownheim SV. (2011). Characterization and in vitro toxicity of copper nanoparticles in murine neuroblastoma (N2A) cells. Department of Systems and Engineering Management, Graduate School of Engineering and Management, Air Force Institute of Technology. Air University USA.
5. McAuliffe ME. and Perry MG. (2007). Are nanoparticles potential male reproductive toxicant? A literature review. *Nano-Toxicol.* 1: 204-210.
6. Suker DK. and Albadran RM. (2013). Cytotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles on rat embryo fibroblast REF-3 cell line *in vitro*. *Europ. J. Exper. Biol.* 3(1): 354-363.
7. Yousefi BV.; Najafi L.; Najafi A.; Gholami H.; BeigiZarji ME.; Golzadeh J.; Amraie E. and Shirband A. (2012). Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *J. Pharmaceut. Biomed. Sci.* 23:1-5.
8. Ahamed M.; Siddiqui MA.; Akhtar MJ.; Ahmad I.; Pant AB. And Alhadlaq HA. (2010). Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 396 (2): 578–583.
9. Fu X. (2015). Oxidative stress induced by CuO nanoparticles (CuO NPs) to human hepatocarcinoma (HepG2) cells. *J. Cancer Therap.* 6: 889-895.
10. Ostaszewska T.; Chojnacki M.; Kamaszewski M. and Sawosz-Chwalibóg E. (2016). Histopathological effects of silver and copper nanoparticles on the epidermis, gills, and liver of *Siberian sturgeon*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23:1621–1633.
11. Al-Bairuty GA.; Shaw BJ.; Handy RD. and Henry TB. (2013). Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aqua. Toxicol.* 126: 104–115.
12. Thakur M.; Gupta H.; Singh D.; Mohanty IR.; Maheswari U.; Vanage G. and Joshi DS. (2014). Histopathological and ultra-structural effects of nanoparticles on rat testis following 90 days (Chronic study) of repeated oral administration. *J. Nanobiotechnol.* 12(42):1-13.
13. Kim YS.; Song MY.; Park JD.; Song KS.; Ryu HR.; Chung YH.; Chang HK.; Lee JH.; Oh KH.; Kelman BJ.; Hwang IK. and Yu IJ. (2010). Sub chronic oral toxicity of silver nanoparticles. Part Fibre Toxicol. 7:20–23.
14. Taha MN. and Ali AMJ. (2016). Changes in the weights of the testes and epididymes as well as sperm characteristic of male albino mice treated with silver nanoparticles. *Ibn Al-Haitham J. Pure. Appl. Sci.* 28(3):309-316.
15. Ema M.; Kobayashi N.; Naya M.; Hanai S. and Nakanishi J. (2010). Reproductive and developmental toxicity studies of manufactured nanomaterials. *Reprod. Toxicol.* 30: 343–352.
16. Bearden HJ and Fuquay JW. (1997). Applied animal reproduction. 4th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey: p:351.
17. Zhang X-D.; Wu H-Y.; Wu D.; Wang Y-Y.; Chang J-H.; Zhai Z-B.; Meng A-M.; Liu P-X.; Zhang L-A. and Fan F-Y. (2010). Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int. J. Nanomed.* 5:771-781.
18. Amara S.; Khemissi W.; Mrad I.; Rihane N.; Ben Slama I.; Mir LE.; Jeljeli M.; Ben Rhouma K.; Abdelmelek H. and Sakly M. (2013). Effect of TiO₂ nanoparticles on emotional behavior and biochemical parameters in adult Wistar rats. *General Physiol. Biophys.* 32(2):229-234.
19. El- Sharkawy NI.; Hamza SM. and Abou-Zeid EH. (2010). Toxic impact of titanium dioxide (TiO₂) in male albino rats with special reference to its effect on reproductive system. *J. Amer. Sci.* 6(11):865-872.
20. Kong L.; Tang M.; Zhang T.; Wang D.; Hu K.; Lu W.; Wei C.; Liang G. and Pu Y. (2014). Nickel nanoparticles exposure and reproductive toxicity in healthy adult rats. *Int. J. Molec. Sci.* 15: 21253-21269.
21. Moor CR.; Price D. and Gallagher TF. (1930). Rat prostate cytology as testis-hormone indicator and prevention of castration changes by testis extract injection. *Amer. J. Anatom.* 45: 71-75.
22. Bakare AA.; Udoakang AJ.; Anifowoshe AT.; Fadoju OM.; Ogunsuyi OI.; Alabi OA.; Alimba CG. and Oyeyemi IT. (2016). Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles using the mouse bone marrow micronucleus and sperm morphology assays. *J. Pollut. Effects. Control.* 4(2): 1-7.
23. Garcia TX.; Costa GMJ.; Franca LR. and Hofmann M. (2014). Sub-acute intravenous administration of silver nanoparticles in male mice alters Leydig cell function and testosterone levels. *Reprod. Toxicol.* 45:59-70.
24. Gromadzka-Ostrowska J.; Dziendzikowska K.; Lankoff A.; Dobrzyńska M.; Instanes C.; Brunborg G.; Gajowik A.; Radzikowska J.; Wojewódzka M. and Kruszewski M. (2012). Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. *Toxicol. Lett.* 214(3):251-258.
25. Xu Y.; Wang N.; Yu Y.; Li Y.; Li Y-B.; Yu Y-B.; Zhou X-Q and Sun Z-W. (2014). Exposure to silica nanoparticles causes reversible damage of the spermatogenic process in mice. *PLOS ONE.* 9(7): e101572.
26. Kruszewski M.; Brzoska K.; Brunborg G.; Asare N.; Dobrzyńska M.; Duzinska M.; Fjellsbo LM.; Georgantzopoulou A.; Gromadzka-Ostrowska J. and Gutleb AC. (2011). Toxicity of silver nanomaterials in higher eukaryotes. *Advan. Molec. Toxicol.* 5: 179-259.

27. Seligman J.; Kosower NS. and Shalgi R. (1992). Effects of caput ligation on rat sperm and epididymis: protein thiols and fertilizing ability. *Biol. Reprod.* 46: 301-308.
28. Talebi AR.; Khorsandi L. and Moridian M. (2013). The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 30:1203–1209.
29. Nel A.; Xia T.; Mädler L. and Li N. (2006). Toxic potential of materials at the nano-level. *Science*. 311(5761): 622-627.
30. Smith MA.; Michael R.; Aravindan RG.; Dash S.; Shah SI.; Galileo DS. and Martin-De Leon PA. (2015). Anatase titanium dioxide nanoparticles in mice: evidence for induced structural and functional sperm defects after short, but not long-term exposure. *Asian J. Androl.* 17: 261–268.
31. Morgan AM.; Abd El-Hamid MI. and Noshay PA. (2015). Reproductive toxicity investigation of titanium dioxide nanoparticles in male albino rats. *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 4 (10): 34-49.

Effect of combination of 635 nm Red laser and infrared 810 nm light on wound healing infected by *Acinetobacter Baumannii*

Mawada M. Funjan (1), Fareed F. Rasheed (2) and Alaa Nazar (3)

(1) College of Medicine / University of Baghdad (2) University of Technology / Baghdad (3) College of Sciences for Women / University of Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: aaronmh802000@yahoo.com

ABSTRACT

Infection is the most important factor for delayed wound healing. Many therapeutic techniques are used for enhancing infected wound healing including the use of two different laser sources. Each wavelength has different biological effect on healing process. An elliptical full thickness skin wound was created aseptically on a back of 45 adult's female BALB/C mice. The wounds were infected with *Acinetobacter Baumannii*, and the mice were randomly divided into two groups, first group (non-irradiated, controls), 15 animals (five in each subgroup) divided according to days of irradiation. Infected (irradiated groups) randomly divided into two principle groups, first set exposed for 5 minutes, the second set exposed to 15 minutes). Animals killed on day 3, 5 and 10 after contamination. Laser phototherapy was carried out with a diode [810nm, power=57 mw, continuous wave laser, power density 11.4mw/ cm²]. [635 nm, power = 48.5 mw, continuous wave laser, power density =9.4 mw/ cm²], the output of each laser fitted with a beam expander to irradiate a circular area of diameter (2.5) cm (area = 5cm²). Phototherapy started directly after surgery and repeated for 3, 5 and 10 days. Histological analysis showed that control subjects had lower granulation tissue compared to irradiated subjects. Irradiated subjects had a lower amount of inflammation compared to controls. Irradiated subjects also showed a more intense re-epithelialization. The granulation tissues were mostly mature in these subjects at the end of the experimental time especially when both wavelengths were used. The present study showed that cold laser therapy has a certain effect on healing of infected wound, especially with association of 810nm+635 nm.

Keywords: infected wound, combination of two wavelengths of laser, *Acinetobacter Baumannii*

الملخص باللغة العربية

يشكل استعمال منظومة ليزيرية مؤلفة من طولين موجيين مختلفين إحدى الطرق الفعالة في علاج الجروح الملوثة لما لها من تأثير كبير في تحفيز وتسريع عملية الالتئام. في هذه الدراسة، تم إجراء التجربة على 45 فأراً تم إحداث جرح في منطقة الظهر لديها وتلويثه بالبكتيريا (*Acinetobacter Baumannii*)، ثم تم تعريض الجروح إلى منظومة بصرية خاصة تدعى (beam-combiner) المكونة من (الليزر الأحمر 635 نانومتر + الأشعة تحت الحمراء 810 نانومتر لفترات زمنية مختلفة (5، 15 دقيقة) لمدة (3، 5، 10 أيام) وتم مقارنتها بمجموعة السيطرة غير المعرضة لليزر. تم اعتماد التقييم النسيجي والنسبة المئوية للالتئام الجرح في احتساب النتائج حيث تبين أن الأطوال الموجية المستعملة كان لها تأثير فعال في تسريع التئام الجروح الملوثة، خاصة باستعمال المنظومة (الأحمر+الأشعة تحت الحمراء).

INTRODUCTION

The skin is the largest body organ and essentially composed of epidermis and dermis. It has five vital functions: protection, sensation, thermoregulation, excretory function, and metabolism (1). Wound healing is a complex biological process, which results in the restoration of tissue integrity. Physiologically, it can be broken down into four distinct phases: homeostasis, inflammation, proliferation and tissue remodeling (2).

Skin flora originates from varying parts of body, but generally do not cause disease. Despite they are not pathogenic in their region, various microorganisms may promote pathogenic ones as a result of discrepancy of the local circumstances and body immunity, and a possibility of complication in particular surgical procedure arises (3). Wound infection is the principle familiar complication in healing wound and preceding both vascular and cellular reaction in tissue. The healing of infected tissue take place entirely after the clarification of infection process and eliminates necrotic tissue (3,4). Previous studies approved the benefits of cold laser therapy (CLT) at some wavelengths in improving tissue repair by accelerating cell division, increasing phagocytic function of leucocytes, increasing granulation tissue formation and collagen deposition (5). Cold laser therapy stays a questionable for non-healing wounds. Wound healing, infection is essential point. Patients with infected wounds have a risk of developing bacteremia, which have lethal consequences and healthcare cost.

There are sporadic literatures on the effect of CLT on healing of wounds that colonized by pathogenic bacteria, such as *S.aureus*, *A.Baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* (6). *Acinetobacter Baumannii* is a gram- negative bacilli that had been emerged in recent years as leading cause of nosocomial infections associated with elevated morbidity and mortality, *A. Baumannii* treatment became a problem in recent years due to its increasing antibiotic resistance strains, so many studies were conducted to discover new modalities of treatment (7).

A combination of two wavelengths with different absorption manners may accelerate wound healing. In spite of various studies and researches that referred to the use of cold lasers in the treatment of wounds, few of these researches examined the effect of laser on the infected wound, as well as few of them applied the usage of combination of two wave lengths at the same time (5). Thus, the present study aimed to evaluate the benefit of combination of two wavelengths of cold laser by using beam combiner (an optical system) in treating wounds infected with *A. Baumannii* mice.

MATERIALS AND METHODS

Forty-five (45) females of BALB/c mice weighing (18-32) gram were enrolled in the study. Animals were kept in individual plastic cage in hygiene conditions with wood chip bedding and maintained at 22 C° in day/night light cycle and fed with standard pelted laboratory diet and had water libidum.

Irradiation procedure

All equipments were calibrated prior to the study to make sure they delivered an accurate dose during the study protocol. The method of irradiation was standardized before experiment. Low energy continuous wave portable 635nm and 810 nm from (Laser Scientific Ltd, UK) was used in all experiments of irradiation. The output power was measured using a laser power meter (SOLO PE Genetc -EoInc, Canada). Cold laser therapy was started immediately after surgery and repeated at 3,5,10 days. This protocol was chosen because the conventional clinical approach to laser therapy for wounds, were 3-5 exposures per week in 24 -hours interval (6, 8-10).

Beam combiner

Components of beam combiner used in this study : beam splitter (is a common optical component that partially transmitted and partially reflects an incident light beam, usually in equal properties and its designed for well defined dividing ratio (r:t) reflectance=transmission for visible light source of light (laser No.1, 635nm, laser No.2, 810nm). Two beam expanders, plane mirror at 45°C (figure 1).

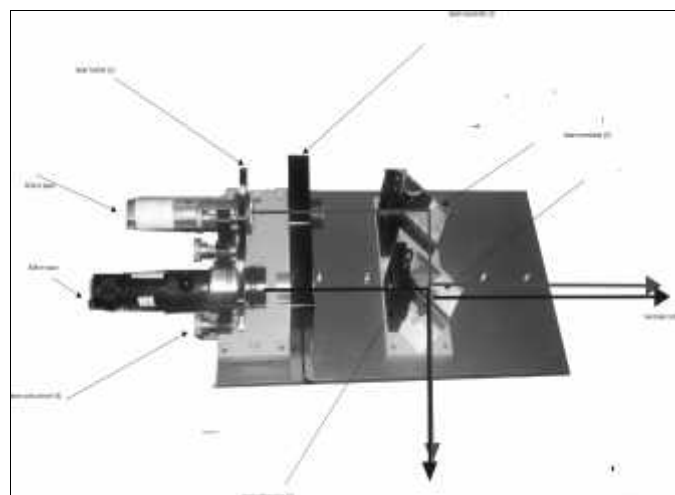


Figure (1): Beam Combiner System

Treatment parameters for beam combiner

Area of spot size at wound surface, (area=5cm²), Irradiance for 810 nm is equal to 11.4mW/cm², Irradiance for 635 nm = 9.4 mW/cm². Dose equals to 3.4J/cm² for 810 nm at 5 minutes. Dose equals to 3J/cm² for 635 nm at 5 minutes. Total doses for 810 nm and 635 nm for 5 minutes equal to 6.4J/cm².

Dose equals to 10.26 J/cm² for 810 nm at 15 minutes, and dose equals to 9 J/cm² for 635 nm for 15 minutes is equal to 19.26 J/cm².

Wound model

On day zero, the day of wounding and inoculation, mice were anaesthetized with injection of ketamine at 130mg/kg and xylazine at 10mg/kg was given via injection for pain management. Hair was clipped from the cervical to mid-lumbar dorsum. The operative site was prepared aseptically with alcohol 70% and an elliptic full thickness skin wound was created aseptically with scalpel in all mice on the shaved back of the animal skin defect overlying the thoracic spinal column and adjacent musculature (8, 9, 11, 12). Each wound was measured approximately (1.4-2.0 cm). The wound was left uncovered during whole period of experiments.

Percentage of wound closure

At 3, 5, and 10 days after wounding, the area of wounds of all mice were recorded. The wound area of all mice was measured at regular intervals with a caliper. The wound area for all ellipses was calculated as follows (12):

$$\text{Area} = L/2 \times W/2 \times (\text{cm})^2$$

Where L and W are the length and width respectively (1-14).

Percentage of wound closure was calculated using the following Formula (13):

$$(\text{Area of 1 day} - \text{Area of x days}) / \text{Area of 1 day} \times 100\%$$

Bacterial strain and inoculation preparation

Swab samples were taken from wound areas of patients whose wounds were infected with *Acinetobacter Baumannii* and were suspected (using sterile disposable cotton swabs in transport media).

These samples were collected from patients hospitalized at Al-Yarmook teaching hospital in the Baghdad. One isolate of *Acinetobacter Baumannii* was selected according to the resistance test to several antibiotics. *A. Baumannii* was identified by using microscopic, cultural characteristics, biochemical test and API system (14,15).

Immediately after the creation of wound, a bacterial suspension containing 10⁸ cells in 50 µl sterile normal saline was inoculated on the surface of each wound with a pipette tip and then was smeared on to the wound surface with a sterile disposable cotton swab (14).

Study design

Prior to surgery, an inoculation of the wound with bacterial suspension was done. Animals were divided into two principle groups, irradiated and infected group (30 animals) and control non-irradiated group (15 animals). Wounds were irradiated for 3, 5 and 10 days beginning on day one immediately post inoculation. This regimen was chosen because the common clinical approach to laser therapy for wounds is three and five exposures a week at 48 hours intervals (6,8, 10, 16). Animals were euthanized immediately after completion of exposure of the wound on day 3, 5 and 10. The distribution of animal groups is shown in table (1).

Table (1): Distribution of animal groups

Infected control groups	No. of animals	Infected and irradiated groups	No. of animals
Group for 3 days	5	Irradiated with 5 minutes for 3 days	5
Group for 5 days	5	Irradiated with 5 minutes for 5 days	5
Group for 10 days	5	Irradiated with 5 minutes for 10 days	5
		Irradiated with 15 minutes for 3 days	5
		Irradiated with 15 minutes for 5 days	5
		Irradiated with 15 minutes for 10 days	5
Total No. of animals =30+15=45 animals			

Histopathological evaluation

At 3, 5, and 10 days after wounding, five mice were selected from each group randomly and killed by ether inhalation. The tissue specimens were stained with hematoxylin and eosin and examined with a semi-quantitative method (16).

Histopathological parameters: polymorphnuclear leucocytes (PMNL), re-epithelialization, fibroblasts, angiogenesis, granulation tissue formation and collagen fibers deposition were evaluated. The sections were examined by histopathologist's experts and assessed on a scale of 0-3 (6, 10).

Sections were graded for wound healing according to seven parameters related to acute inflammatory response and repair: polymorphnuclear leucocytes, granulation tissue, fibroblasts, collagen deposition, and evidence of epithelialization. Each feature was semi quantitatively evaluated (from 0=absent or no evidence, to 3= prominent =marked) based on well-defined and reproducible histological feature as described by (17).

Statistical analysis

Statistical analysis and reporting of obtained data were carried out by using the computerized database structure; statistical package for social science (SPSS V.20, computer software was used for this purpose). Frequency distribution was done for the study variables. Data were reported and presented as mean \pm SD and or (95% confidence interval) for the normally distributed variables. The bootstrapping was done for small groups to the 1000 sample size and the statistical significance of difference between mean of a normally distributed continuous parametric variables of two groups was assessed using the independent samples students t-test; and the Analysis of variance (ANOVA) were used to compare continuous parametric variables between more than two groups. Statistical tests were

approved by assuming a null hypothesis of no difference between mean of variable, a P value 0.05 and 0.005 was considered statistically significant. Histopathological parameters were compared via Chi-square test.

RESULTS

Wounds infected with *Acinetobacter Baumannii* revealed inflammation sequences after 48 hrs.

Percentage of wound closure

No significant differences were shown for wounds closure between contaminated groups exposed to 6.4J/cm², (27.497±11.058), and controls (20.011±7.037) at day 3 after treatment.

While significant difference was observed for wound closure between contaminated group

exposed to (19.26 J/cm²) (52.887±10.941) and controls (20.011±7.037) (P=0.025) (table 2).

Significant differences were observed for wound closure between contaminated groups exposed to (6.4J/cm²) (47.191±8.805), and controls (34.751±5.852) at day 5 after treatment, while the group exposed to (19.26J/cm²) showed high significant difference for wound closure between contaminated group (62.537±6.706) and controls (34.751±5.852) (P=0.001) (table 2).

At day 10 after treatment, contaminated groups exposed to (19.26J/cm²) showed very high significant difference with controls (97.064±2.865) (48.256±18.0) respectively (p=0.0002) and significant difference for wound closure between contaminated groups exposed to (6.4 J/cm²) (58.435±10.789) and controls (48.256±18.0) (p=0.0085) (table 2).

Table (2): Effect of 635nm red laser and 810 nm IR on wound closure% in mice (Infected groups)

Day of examination	Duration of irradiation (min)	Closure % (healing) of Infected wound for Red+IR			
		Contaminated wound (m±SD)	Control (m±SD)	Calculated t-test*(P-value)	ANOVA* F value (P-value)
Day 3 (n= 10)	5 (n= 5)	27.497±11.058	20.011±7.037	1.28 (0.24)	15.28 (0.0005)***
	15 (n= 5)	52.887±10.941		2.75 (0.025)**	
Day 5 (n= 10)	5 (n= 5)	47.191±8.805	34.751±5.852	-1.41 (0.20)	6.712 (0.011) ***
	15 (n= 5)	62.537±6.706		6.29 (0.0001) **	
Day 10 (n= 10)	5 (n= 5)	58.435±10.789	48.256±18.000	3.47 (0.0085)**	22.17 (0.0001)***
	15 (n= 5)	97.064±2.865		6.58 (0.0002)**	

*Bootstrapping was done for the independent samples up to the sample size 1000.

**=t-test; statistically significant at level of significance of 0.05, 0.005.

***= one way ANOVA; statistically significant at level of significance of 0.05, 0.005

Histological observations

Healing process characterized by incomplete epithelialization and presences of collagen and granulation tissue with absent of necrosis were observed at irradiated infected groups on day 3, after the exposure for 15 minutes (figure 2). Progressive healing was seen in the infected wound exposed to 15 minutes on day 5 with complete

epithelialization, granulation and enhance collagen deposition compared to no healing seen in control group (no epithelialization, no granulation tissue formation and no collagen deposition) (figure 3).

A complete healing with complete re-epithelialization mature granulation formation and collagen fibers were seen in the infected wound exposed to 15 minutes on day 10 compared to incomplete healing of control group (figure 4).

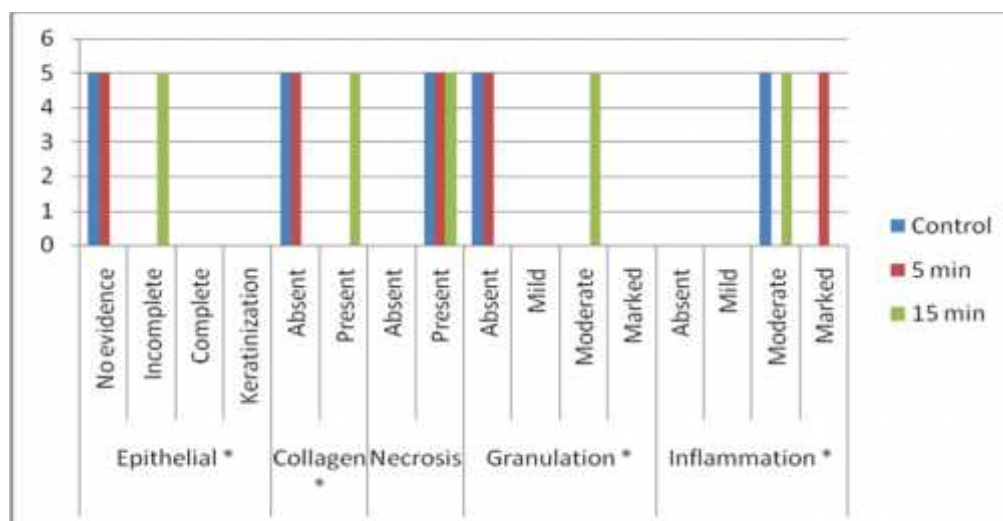


Figure (2): The Semi-quantitative histopathological evaluation at day 3 after wounding .
* Significant (Chi-square=15, df=2, P=0.001)

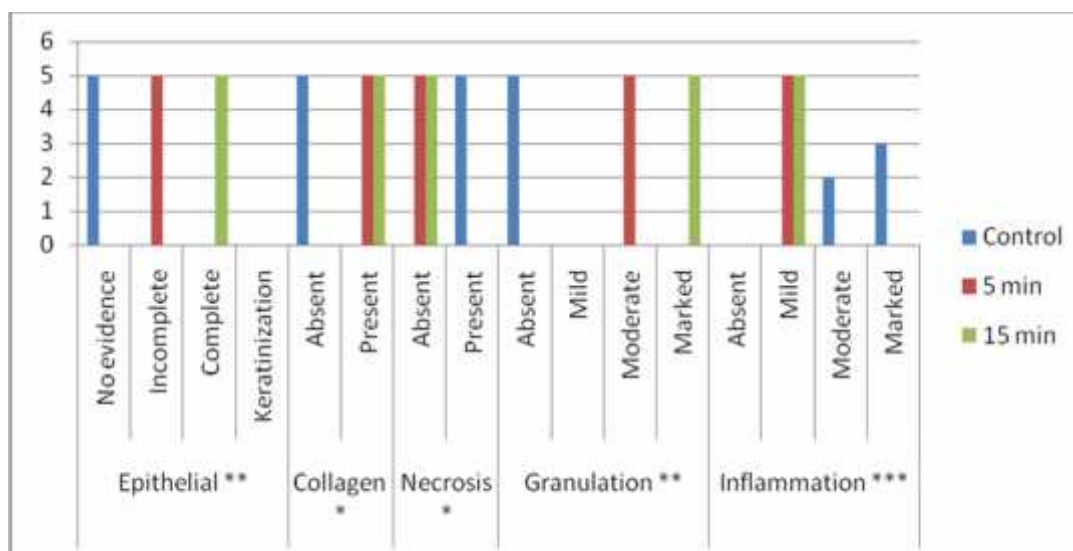


Figure (3): The Semiquantitative histopathological evaluation at day 5 after wounding (infected groups).

* Significant (Chi-square=15, df=2, P=0.001)

** Significant (Chi-square=30, df=4, P=0.005)

*** Significant (Chi-square=15, df=2, P=0.005)

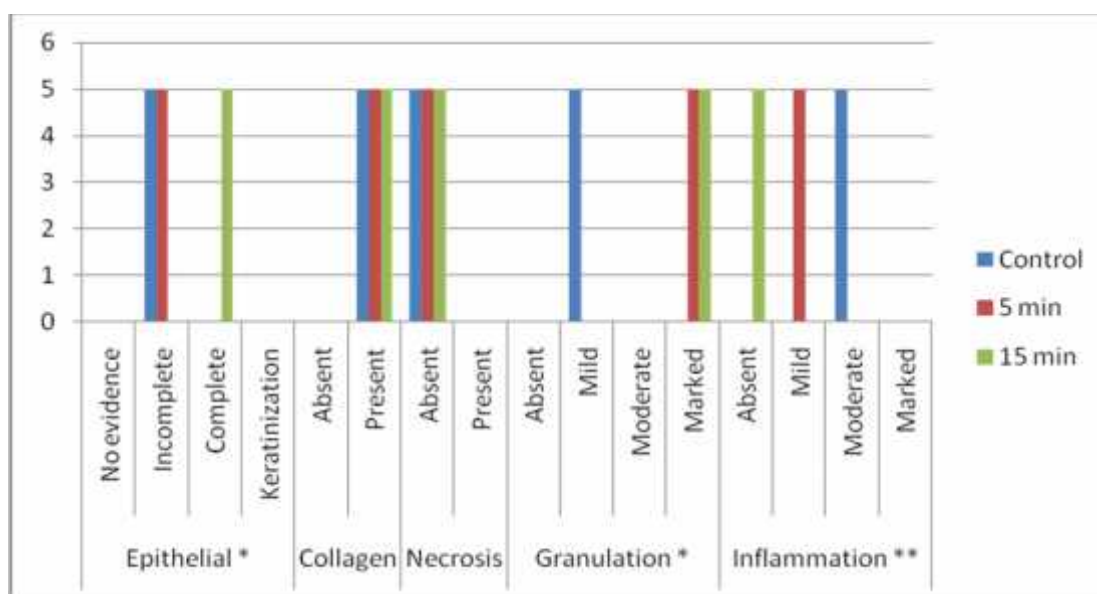


Figure (4) : The Semi-quantitative histopathological evaluation at day10 after wounding (infected groups).

* Significant (Chi-square=15, df=2, P=0.001) ** significant (Chi-square=30, df=4, P=0.005)

DISCUSSION

Cold laser therapy (CLT) is a type of phototherapy, which concerns the application of CLT light in the red or near infrared wavelengths to treat different diseases and injuries. The light is regularly monochromatic and coherent and produces by lasers and used to enhance healing, regeneration. Increase the rate quality and tensile strength of healing tissue (18,19).

The present study aimed to investigate the effects of using two wavelengths CLT on healing processes of wound infected with *Acinetobacter Baumannii* Bacteria.

Two fundamental considerations were made from the outset of study: a cutaneous wound model was selected based on findings of a previous studies,

where an open wound did not negatively affect animal health during more than 15 days protocol (20).

Many positive effects of CLT have been recorded in repair of cutaneous wounds.

Both experimental and human researches has shown enhanced collagen synthesis, these being a property to increased ATP (Adenosine triphosphate) production and enhanced cell metabolism and fibroblast reproduction or spreading positive significant wound healing seen in the irradiated infected groups expressed by decrease inflammation and increase granulation tissue formation, collagen deposition compared to non- irradiated control group, this may be due to the effect of combination of two wavelengths laser (red + infrared) which leads to increase ATP (Adenosine triphosphate)

production and cell metabolism and fibroblast proliferation. For infected wounds in rats estimated by Histopathological and immune histochemical, Ferreira et al noticed a huge amount of macrophages in the lesions treated with laser 632.8nm. This explained that laser therapy augment the phagocytic capacity of macrophages, assisting cleaning of the wound Ferreira study (21).

This result is in agreement of same finding noticed by (22,23).

A complete distinguishing of the effect of light on healing is remaining far away, and the mechanism of stimulation of specific cells, such as fibroblast, remain unknown. For this reason of knowledge demonstrates why it is so hard to explain effective protocols for the treatment of various wound types of in compromised subjects. Another important parameter in this study was the irradiance (energy density). Our results showed that on day 5, the infected group showed a positive effect of complete healing of the wound at (19.26 J/cm²) expressed by complete re-epithelialization, granulation tissue formation, increase collagen deposition and decreased inflammation which goes with the wound closure percentage and this finding suggest that the beneficial effect may be due to the direct effect of laser on host tissue (10). Using a combination of (Red 635nm+IR 810nm) cold laser, we achieved a best result in wound healing with dose 19.26J/cm² at 15 minutes for 5 and 10 days where complete healing of wound was seen compared to incomplete healing shown by control. Using optical system in this study is to interfere two wavelengths (red and 810nm) to reduce illuminated time. It was noticed that if an animal's model exposed to laser No 1, for 5 minutes and then to laser No.2 for another 5 minutes, the summation of time exposure will be 10 minutes. While using (optical system) (beam combiner it reduce the time of exposure. (Two types of laser at the same time) i.e. 5 minutes only.

The results showed that both doses have the same noticeable effect on wound healing but the effect is more clear at (19.26J/cm²) and this in accordance with the result of Castano study (24). who noticed that when irradiance is constant, the biological effect of laser needs enough time and this effect depends on the total dose (absorbed photon) more than on intensity of laser (irradiance) and this incident called (Importance of irradiated time). The principle advantage of beam combiner is to use certain illuminated time, because illuminated or irradiation time is the most important factor affecting photo biological response (24,25).

There has been many projects suggested that the photons absorbed by cytochrome C oxidase, which leads to dissociation of the inhibitory molecule, nitric oxide, from oxygen binding sites within the enzyme, thus elevating the enzyme activity in cellular respiration. The primary cellular effect of CLT is to elevate the activity of enzyme; it makes sense to suppose that this increased activity should take for a sufficiently enough time to have real effect on cellular metabolism.

Wavelengths are an important and essential parameter of CLT because it interacts with certain molecules (26,27). It is accepted that red light affect directly on mitochondria, infrared light interact with cell membrane and each type of light after specific therapeutic actions. This indicates that the use of

associated wavelengths may further improve the outcome treatment (26, 2, 29).

REFERENCES

1. Vinay K.; Abbas AK. and Jon C. (2014). Pathologic Basis of Disease. 9th ed. Pp.: 79–100.
2. Bizunesh M.; Borenaa B.; Ann MSY.; Broeckx E.; Koen EM.; Duchateau CL.; Jan H. and Spaas JH. (2015). Regenerative skin wound healing in mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. Cell. Physiol. Biochem. 36:1-23.
3. Athanasopoulos AN.; Economopoulou M. and Orlova VV. (2006). The extracellular adherence protein (EAP) of *Staphylococcus aureus* inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms. Blood. 107:2720-2727.
4. Oliveira MAM.; Pinheiro ALB. and Moreira ACA.(2003). Comparative study of the effects of the use of the CO₂ laser and chlorhexidine on the healing of cutaneous wounds infected by the *Staphylococcus aureus*. in: Lasers in Dentistry, Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers- SPIE. Vol. (9): 122-130.
5. Huang YY.; Chen AC.; Carroll JD. and Hamblin MR. (2009). Biphasic dose response in low level light therapy. Dose Resp. 7(4): 358-383.
6. Nussbaum EL.; Facundo LH.; Kenneth PH.; Pritzker TM. and Lothar L. (2014). Effects of low intensity laser irradiation during healing of infected skin wounds in the rat. Photon. Lasers Med. 13(1): 23-36.
7. Grosso F.; Quinteira S. and Peixe L. (2010). Emergence of an extreme-drug resistant (XDR) *Acinetobacter Baumannii* carrying blaOXA-23 in a patient with acute necro haemorrhagic pancreatitis. J. Hosp. Infect. 75:82–83.
8. Hui M.; Ying-xin L.; Hong-li C.; Mei-ling K. and Timon YL. (2012). Effects of low-intensity laser irradiation on wound healing in diabetic rats. Int. J. Photo. Ener. 7:157-162.
9. Akyol U. and G'ung'orm'us M. (2010). The effect of low-level laser therapy on healing of skin incisions made using a diode laser in diabetic rats. Photo. Med. Laser Surg. 28(1): 51–55.
10. Nussbaum EL.; Tony M.; Kenneth PH.; Pritzker FLH.; Fang J. and Lothar L. (2009). Effects of low intensity laser irradiation during healing of skin lesions in the rat. Laser. Surg. Med. 41:372 -381.
11. Al-Watban FA.; Zhang XY. and Zhang NG. (2004). The comparison of effects between pulsed and CW lasers on wound healing. Photomed. Laser Surg. 22(1):15-18.
12. Al-Watban FA.; Zhang XY. and Andres BL. (2007). Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. Photomed. Laser Surg. 25(2):72-77.
13. Byrnes KR.; Barna L. and Chenault M. (2004). Photo biomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes. Photomed. Laser. Surg. 22: 281–290.
14. Xavier R.; Tianhong D.; George PT.; Montserrat A.; Santi N. and Michael RH. (2010). Photodynamic inactivation of *Acinetobacter baumannii* using phenothiazinium dyes: *in vitro* and *in vivo* studies. Laser. Surg Med. 42(5):384–390.

15. MacFaddin JF. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins. USA. Pp.:239-253.
16. Róbert K.; Lucia L.; Ján S.; Peter K.; Kamila L.; Tomáš V.; Martina V.; František L. and Jozef R. (2014). Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low-level laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal and diabetic rats. Biomed. Res. Int. 1:9-11.
17. McMinn R. (1969). Skin and subcutaneous tissues. Tissue repair. New York and London: Academic Press. Pp.:1-40.
18. Eells JT.; Henry MM.; Summer Felt P.; Wong-Riley MT.; Buchmann EV.; Kane M.; Whelan NT. and Whelan HT. (2003). Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity. Proc. Nat. Acad. Sci. 100(6):3439-3444.
19. Whelan HT.; Buchmann EV.; Dhokalia A.; Kane MP.; Whelan NT.; Wong-Riley MT.; Eells JT.; Gould LJ.; Hammamieh R.; Das R. and Jett M. (2003). Effect of NASA light-emitting diode irradiation on molecular changes for wound healing in diabetic mice. J. Clin. Laser. Med. Surg. 21:67-74.
20. Hoffman M.; Harger A.; Lenkowski A.; Hedner U.; Roberts HR. and Monroe DM. (2006). Cutaneous wound healing is impaired in hemophilia B. Blood. 108:3053-3060.
21. Ferreira M.; Gameiro J.; Nagib P. *et. al.* (2009). Effect of low intensity helium-neon (He-Ne) laser irradiation on experimental paracoccidiomycotic wound healing dynamics. Photochem. Photobiol. 85:227-233.
22. Pinheiro ALB.; Pozza DH. and de Oliveira MG. (2005). Polarized light (1400-2000 nm) and non-ablative laser (685 nm): a description of the wound healing process using immunohistochemical analysis. Photomed. Laser Surg. 23:485-492.
23. Gupta A.; Dai T. and Hamblin MR. (2014). Effect of red and near infrared wavelengths on low-level laser (light) therapy induced healing of partial-thickness dermal abrasion in mice. Lasers Med Sci. 29:1-16.
24. Castano AP.; Tianhong D.; Ilya Y.; Richard C.; William A.; Apruzzese MHS. and Michael RH. (2007). Low-level laser therapy for zymosan-induced arthritis in rats: importance of illumination time. Laser. Surg. Med. 39: 543-550.
25. Gavish L.; Asher Y.; Becker Y. and Kleinman Y. (2004). Low level laser irradiation stimulates mitochondrial membrane potential and disperses sub nuclear promyelocytic leukemia protein. Laser. Surg. Med. 35(5):369-376.
26. Arruda ERB.; Rodrigues NC.; Taciro C. and Parizotto NA. (2007). Influences of different low level laser therapy wavelengths in rat tendon regeneration after tenotomy. Rev. Bras. Fisioter. 11:283-288.
27. Vladimirov YA.; Osipov AN. and Klebanov GI. (2004). Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. Biochem. 69:81-90.
28. Amat A.; Rigau J.; Waynant RW. *et. al.* (2006). The electric field induced by light can explain cellular responses to electromagnetic energy: a hypothesis of mechanism. J. Photochem. Photobiol. B. 82:152.
29. Gigo-Benato D.; Geuna S.; de Castro RA. *et. al.* (2004). Low power laser biostimulation enhances nerve repairs after end-to-side neurorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. Laser. Med. Sci. 19:57-65.

The effect of silver nanoparticles prepared with *Lawsonia inermis* extract on some multiple antibiotics resistant bacteria

Salah S. Zain Al-Abdeen

College of Sciences / University of Kirkuk / Republic of Iraq

E-mail: mts.m1963@gmail.com

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of silver nanoparticles that were prepared by using the *Lawsonia inermis* extract against two multiple antibiotics resistant Gram negative pathogenic bacteria (*E.coli* and *Proteus mirabilis*) and one gram positive pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*).

Results showed that the observed color of the mixed solution of extract and 1 mM silver nitrate changed to dark brown. The solution is considered to be an evidence of the nanoparticles formation, where the UV-VIS spectrophotometer showed the absorption peak 400 nm. However, the study of XRD diffraction showed peaks (111, 200, 220) and the antibacterial activity of the particles prepared showed the antibacterial activity against tested species.

Keywords: silver nanoparticles, *Lawsonia inermis*, bacteria

الملخص باللغة العربية

هدفت هذه الدراسة إلى تحديد تأثير جسيمات الفضة النانوية المحضرة باستخدام مستخلص نبات الحناء *Lawsonia inermis* على اثنين من البكتيريا المرضية السالبة لملون كرام ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (*E.coli* and *Proteus mirabilis*) وبكتيريا واحدة موجبة لملون كرام (*Staphylococcus aureus*). أوضحت النتائج تغير لون محلول الفضة بتركيز (1Mm) والمستخلص النباتي إلى البني الغامق والذي يدل على تكون جسيمات الفضة النانوية. كما أظهر طيف امتصاص الأشعة UV-VIS في (400 nm). وأظهر طيف الأشعة تحت الحمراء وجود ثلاثة قمم، مثلت القيم (111 ، 200 ، 220). تبين أن لهذه الجسيمات تأثيراً تثبيطياً على أنواع البكتيريا المرضية ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية المستخدمة.

INTRODUCTION

The resistance of bacteria to antibiotics is a clinical problem, which relies on many medicinal plants as an alternative to antibiotics (1-3). Henna plant is a small tree and scientifically called *Lawsonia inermis*. It can be grown in many tropical and non-tropical areas. It is used mainly and commonly in cosmetic industry.

Henna Plant contains special components in its leaves such as several biologically active substances that act as analgesic as well as it can be used to reduce body temperature, improve the color and health of the hair. In addition, it has been studied in cancer cases and to inhibit the growth of bacteria, parasites and viruses (3,4).

Recently, nanoparticles field has got a lot of attention of scientists in the nanotechnology science to reveal high activities of materials (1). The nanoparticles of noble metals such as gold, silver, zinc and platinum has been used in many products, which are in contact with the human body like as detergents, cosmetics and toothpaste. In addition to the studies of pharmaceutical and medical uses for an antibacterial, anticancer and antipyretic (5-9).

The preparation of nanoparticles process depends on the biological methods, which are more significant than the physical and chemical processes because of the cost, low exhausting of energy and heat and non-toxic, which is considered as environmentally friend (10-12).

Many studies had pointed out the use of plant extracts as a reductant in preparation of silver nanoparticles, such as the use of *Aloe vera* plant, which showed inhibitory effect on the *E.coli* and *Staphylococcus aureus* (13), where the silver nanoparticles was prepared by using the pomegranate peel extract as a reducing agent, which had inhibitory effect on *E.coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* (14).

In addition, other plants such as *Artemisia pallens* (15), *Murrayako enigii* and *Zea mays* (16) and bananas in addition to lemon, black pepper and *Myrtus communis* had been used as reducing agents for silver nanoparticle preparation (17-19).

In addition, other plants such as *Artemisia pallens* (15), *Murrayako enigii* and *Zea mays* (16) and bananas in addition to lemon, black pepper and *Myrtus communis* had been used as reducing agents for silver nanoparticle preparation (17-19).

Because of bacterial resistance to antibiotics as well as the evolution of multiple antibiotics resistance, many plants have been adopted as alternative sources to antibiotics. Therefore, this study aimed to use the henna powder as a reducing agent in the preparation of silver nanoparticles and to study its influence on a number of human pathogenic bacteria.

MATERIALS AND METHODS

Samples

Clinical samples were collected from different hospitals in Kirkuk city.

The samples were planted in bacteriological culture media and then the grown isolates were identified depending on the reliable diagnosis sources (20-22). The diagnosis was confirmed by using API20E system and API staph system.

Plant extract preparation

Henna powder was obtained from local markets. A weight of 2 g of powder was dissolved in 50 ml of sterile distilled water. The solution was left for three hrs. on a magnetic motor, then left for one hr. before the filtration with Whatman No.1. filter paper (1).

Antibiotic sensitivity

To study the sensitivity of the bacteria to a number of antibiotics, disc diffusion method was adopted, where the results were compared with standard diameters of inhibition (23, 24).

Preparation of silver nanoparticles

10 ml of Henna extract were added to 90 ml of 1mM silver nitrate solution. To obtain reduction process, the solution was left at room temperature until observing the color change. The process was carried out in the dark to avoid photo oxidation (25).

Silver nanoparticles characterization

According to (25), UV-VIS- Spectrophotometer device (JASCO) was used to detect the absorption spectrum of the particles. The size of particles were determined by using the x-ray diffraction ((XRD) device type (Shimadzu). In addition, the scanning electron (TSCCAN - VEGA) was used.

Antibacterial activity

Well- Diffusion method in Mueller –Hinton agar was followed to study the inhibitory effects of the particles on the growth of the number of humans pathogenic bacteria. The bacteria was characterized as a multiple-antibiotics resistance.

The prepared media was poured in the dishes to be hardened. The bacterial inoculum was prepared and compared to standard MacFarland tube (1×10^8) cfu; Muller Hinton dishes were inoculated using cotton swabs. Using the cork borer, a number of wells were developed in each plate (6 mm) diameter. The holes were individually fuelled with 60 ul of Henna extract, solution of silver nitrate 1mM and silver nanoparticles. Finally, the dishes were incubated at 37 ° C for 24 hrs. (26).

RESULTS AND DISCUSSION

Three species of gram positive and gram negative bacteria were selected (three isolates of each species), and characterized according to their resistance to the largest numbers of antibiotics among bacterial isolates obtained. The species were found to be resistant to five beta-lactam antibiotics in addition to other types of antibiotics as shown in table (1).

Table (1): Antibiotics resistant of tested bacteria

Isolates	AMC	AX	AM	IP	CAZ	CRO	CTX	GM	AK
<i>E. coli</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Staph. aureus</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>P. mirabilis</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	S

The reason of beta-lactam antibiotics resistance may be due to production of beta-lactamase enzymes especially for resistance to B-lactam antibiotics or because of other resistance mechanisms. The mechanisms are either naturally depend on the genotype or acquired (27).

Figure (1) shows the first step in the preparation of silver nanoparticles as well as the process of changing the color of a mixture of Henna extract solution and 1mM silver nitrate to dark brown, where the obtained results were same as in (28- 30).



Figure (1): Synthesis of silver nanoparticles

The formation of silver nanoparticles was confirmed by studying the UV/VIS absorption spectrum as a second step, which was 400 nm as shown in figure (2) that are consistent with (31).

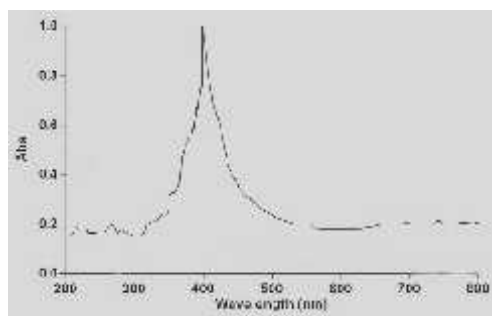


Figure (2): UV-visible absorption spectra obtained for silver nanoparticles synthesized by *Lawsonia inermis*

Figure (3) reflected the third step of confirmation of silver nanoparticles formation. The study of X-ray diffraction showed the presence of three peaks of the diffraction rays (111, 200 and 220) which were considered to (34.3, 41.5 and 63.25)⁰ respectively. The result was closed to Joint Committee on Powder diffraction Standards (JCPDS). The particle sizes were (5 nm to 111 and 8 nm to 200 and 7nm 220 nm) peaks using sherrer equation (32).

$$D = 0.9 / \cos$$

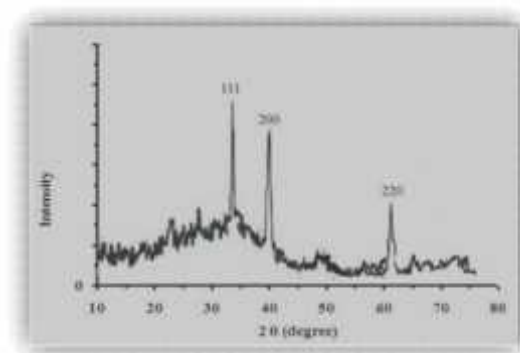
Where,

= wave of X-ray ((0.1541 nm)

= (full width at half maximum)

= Diffraction angle

D = particles diameter



Figure(3): the XRD pattern of the silver nanoparticles formed by *Lawsonia inermis*

The average particle size was 6.6nm, where is closed to (33), who indicated that the particle sizes were (5.3, 8.2 and 5.1) nm to the peaks (111, 200 and 220) respectively. The results of the present study also were in agreement with (34), where the particle size was 7.40 nm. Figure (4) showed the accumulation of silver nanoparticles using a scanning electron microscope in different magnification.

Through the study of the effect of silver nanoparticles on some pathogenic bacterial isolates, the inhibition of the growth reflects the effectiveness of silver nanoparticles on selected pathogenic bacteria which are characterized as multiple - antibiotic resistance as shown in table (2). According to the results, the higher inhibition zone is 32 mm for *Staph. aureus* using absolute concentrations of silver nanoparticles while in concentration 35%, the lowest inhibition zone is 8 mm for the isolates (No. 2 and 3). The highest zone of inhibition of *P. mirabilis* growth is 34 mm for the isolates (No. 2 and 3) in absolute concentration while the lowest zone was 5 mm for the same isolates in concentration 35%. The largest diameter of inhibition was 35 mm for isolate (No. 2) of *E. coli* in the absolute concentration while lowest zone for the isolates (No. 2 and 3) was 8 mm in the concentration 35 %.

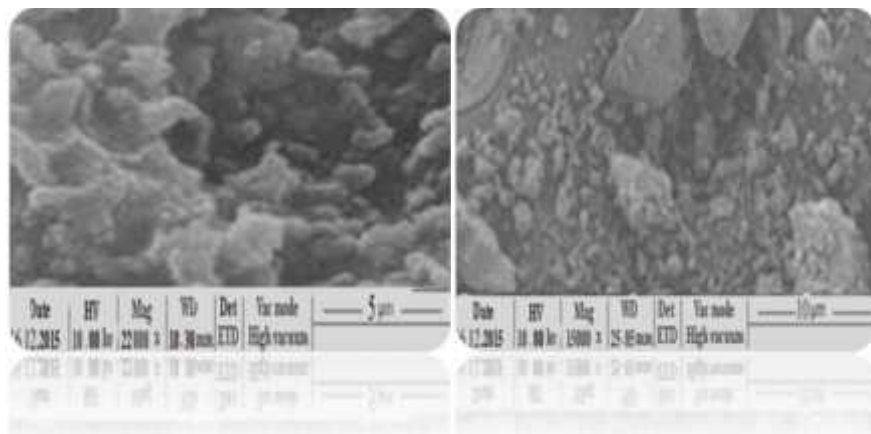


Figure (4): Scanning electron micrograph of silver nanoparticles

The selected isolates were characterized as a multiple- antibiotic resistance. In the other hand, there was little inhibition against three isolates in concentration 25%. However, more future studies needed to improve production or combination with antibiotics to promote the antibiotics activity. The effectiveness of the prepared particles were tested where it was more than the effect of Henna

extract alone and silver nitrate 1mM. Additionally, the results showed that the effect of the particles prepared with henna extract was more than the effect of particles prepared using a *Clitoria ternatea* extract on same types of bacteria as the inhibition zone which was not exceed more than 17 mm (35).

Table (2): Antibacterial activity of silver nanoparticles resistant of tested bacteria

Concentration of silver nanoparticles %	<i>Staph. aureus</i>		
	Zone of inhibition for isolate No.1(mm)	Zone of inhibition for isolate No.2(mm)	Zone of inhibition for isolate No.3(mm)
100	30	32	30
50	21	18	17
35	9	8	8
25	0	1	2
Henna extract	20	20	20
AgNO ₃	15	15	15
Concentration of silver nanoparticles%	<i>Proteus mirabilis.</i>		
	Zone of inhibition for isolate No.1(mm)	Zone of inhibition for isolate No.2(mm)	Zone of inhibition for isolate No.3(mm)
100	32	34	34
50	20	19	17
35	7	5	5
25	0	1	0
Henna extract	20	20	20
AgNO ₃	15	15	15
Concentration of silver nanoparticles %	<i>E.coli</i>		
	Zone of inhibition for isolate No.1(mm)	Zone of inhibition for isolate No.2(mm)	Zone of inhibition for isolate No.3(mm)
100	34	35	34
50	25	23	24
35	9	8	8
25	1	1	1
Henna extract	20	20	20
AgNO ₃	16	16	16

CONCLUSION

When *Lawsonia inermis* extracts were mixed with [1mM] AgNO₃ solution, the color of the reaction medium had changed to dark brown, which indicated the formation of SNP during reduction of silver ion. The solution is considered to be an evidence of the nanoparticles formation, where the UV-VIS spectrophotometer showed the absorption at peak 400 nm and XRD showed peaks at (11, 200, 220). However, the study of antibacterial activity of the particles formed appeared to have the inhibitory activity against multiple – antibiotics resistant bacteria (*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *proteus mirabilis*).

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank Dr. Ahmad Hussein in computer department for his cooperation to achieve this work.

REFERENCES

1. Naseem T. and Muhammad AF. (2015). Antibacterial activity of green synthesis of iron nanoparticles using *Lawsonia inermis* and *Gardenia jasminoides* leaves extract. Hindawi Publishing Corporation. Iraq.
2. Bath PD. and Subhasree RS. (2009). Antimicrobial activities of *Lawsonia inermis*: a review. Acad. J. Plant. Sci. 2 (4): 231-232.
3. Kannahi M. and Vinotha K. (2013). Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* leaf extracts against some human pathogens. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2(5): 342-349.
4. Chaudhary G.; Goyal S. and Poonia P. (2010). *Lawsonia inermis* linnaeus: A phytopharmacological review. Int. J. Pharmaceut. Sci. Drug Res. 2(2): 91-98.
5. Sharma VK.; Yngard RA. and Lin Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. Adv. Colloid. Inter. Sci. 145:83-96.
6. Okafor F.; Janen A.; Kukhtareva T.; Edwards V. and Curley M.(2013). Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. Int. J. Environ. Res. Pub. Health. 10:5221-5238.
7. Swathy B.(2014). A review on metallic silver nanoparticles. IOSR. J. Pharm. 4(7): 38-44.
8. Nair LS. and Laurencin CT. (2007). Silver nanoparticles: synthesis and therapeutic applications. J. Biomed. Nanotechnol. 3: 301-316.
9. Roco MC. (2003). Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. Curr. Opinion. Biotechnol. 14(3): 337-346.
10. Brayner R.; Fi'evet F. and Coradin T. (2013). Synthesis of organic and bioorganic nanoparticles: an overview of the preparation methods. In : Nanomaterials: A Danger or a Promise? A Chemical and Biological Perspective. J. Allouche, Ed. Pp.: 27-74. Springer, London, UK.
11. Jain D.; Kumar DS.; Kachhwaha S. and Kothari SL. (2009). Synthesis of plant mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their antimicrobial activities. Digest J. Nanomat. Biostruct. 4(3):557-563.
12. Verma VC.; Kharwa RN. and Gange AC.(2010). Biosynthesis of antimicrobial silver nanoparticles by the endophytic fungus *Aspergillus clavatus*. J. Nanomed. 5(1):33-40.
13. Hashoosh SI.; Fadhil AMA. and Al-Ani NK. (2014). Production of Ag nanoparticles using *Aloe vera* extract and its antimicrobial activity. J. Al-Nahrain Unive. 17(2):165-171.
14. Zain Al- Abdeen SS. (2015). Effect of silver nanoparticles prepared with pomegranate peel extract on antibiotic resistant Gram negative bacteria. Int. J. Sci. Technol. (IJST) 10(2): 47-52.
15. Kote J R.; Mulani R M.; Kadam AS.; Kharate MS. and Wakode VA.(2014). Green synthesis of silver nanoparticles from *Artemisia pallens*, Wall.ex DC and its cytotoxicity activity as an antimycobacterial agent. J. Microbiol. Biotech. Res. 4 (6):1-4.
16. Deb S. (2014). Synthesis of silver nanoparticles using murrayakoenigii green curry leaves, zea mays (baby corn) and Its antimicrobial activity against pathogens. Int. J. Pharm. Tech. Res. 6(1): 91-96.
17. Banerjee P.; Satapathy M.; Mnrudha A. and Das P.(2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. Bioresour. Bioproc. 1:3.
18. Mittal J.; Batra A.; Singh A. and Sharma MM. (2014). Phytofabrication of nanoparticles through plant as nanofactories advances in natural sciences. Nanosci. Nanotechnol. 5(4): 1-10.
19. Sulaiman GM.; Abdul-Wahab HE.; Abdul-Wahab AI. and Mohammad AA. (2013). Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by myrtuscommunis extract. Eng. Tech. J. 31(3):400-409.
20. Brown AE. (2007). Benson's microbiological applications laboratory manual in general microbiology. 10th ed. McGraw-Hill Comp. Inc., USA. Pp.102-263.
21. Collee JG.; Fraser AG. ; Marmion BP. and Simmons A. (1996). Mackie and McCartney's practical medical microbiology. 14th ed. Churchill Livingston .USA., Pp:166-170, 838-839.
22. MacFaddin JF.(2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. Lippincott Williams and Wilkins .Philadelphia ,USA.
23. Leep PW. (2010). General microbiology. Laboratory manual. 2nd Ed. P. :142.
24. Clinical and Laboratory Standards Insitute. (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third information supplement.33(1): 101-106.
25. Kumar KS. and Kathireswari P. (2016). Biological synthesis of Silver nanoparticles (Ag-

NPS) by *Lawsonia inermis* (Henna) plant aqueous extract and its antimicrobial activity against human pathogen. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci 5(3): 926-937.

26. Elumalai EK.; Prasad TNVKV.; Hemachandran J.; Therasa SV.; Thirumalai T. and David E. (2010). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Euphorbia hirta* and their antibacterial activities . J. Pharm. Sci. Res. 2 (9): 549-554.

27. Nester EW.; Roberts CE.; Pearsall NN.; Anderson DG. and Nester MT.(2004). Microbiology: a Human Perspective. 4th ed. WCB. McGraw-Hill Companies. Pp:599-604.

28. Sulaiman GM.; Abdul-Wahed HE.; Abdul-Wahab AI. and Mohammad AA. (2013). Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *myrtus communis* extract. Eng. Tech. J. 31(2): 101-107.

29. Rautrajesh W.; Jaya RL.; Niranjan SK. and Sahebrao BMDK. (2009). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *glirricidia sepium* (Jacq.). Curr. Nanosci. 5:117-122.

30. Baharara J.; Namvar F.; Ramezani T.; Hosseini N. and Mohamad R. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using *Achillea millefolium* flower extract and its anti-angiogenic properties in the rat aortic ring model. Molecules. 19: 4624-4634.

31. Mahmood MA. (2012). The antibacterial effect of silver nanoparticles on some bacterial pathogens. Iraqi J. Phys. 10(18): 56-61.

32. Bykkam S.; Ahmadipour M.; Kalagadda VR. and Chidurala SC. (2015). Extensive studies on x-ray diffraction of green synthesized silver nanoparticles advances in nanoparticles. 4:1-10.

33. Kumar H. and Rani R. (2013). Structural characterization of silver nanoparticles synthesized by micro emulsion route. Int. J. Eng. Innov. Technol. (IJEIT) 3(3): 109-113.

34. Budhiraja N.; Sharma A.; Dahiya S.; Parmar R. and Vidyadharan V. (2013). Synthesis and optical characteristics of silver nanoparticles on different substrates. Int. Lett. Chem. Phys. Astro. 19: 80-88.

35. Malabadi RB.; Mulgund GS.; Meti NT.; Nataraja K. and Kumar SV. (2012). Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by using whole plant extracts of *Clitoria ternatea*. Res. Pharm. 2 (4): 10-21.

Evaluation of her/2-neu gene status using FISH/CISH techniques in Iraqi breast carcinoma patients

Maha F. Altaee (1), Noor M. Jabbar(1), Reyadh S. Mohammed (2) and Rana Z. Naji (3)

(1) Dept. of Biotechnology / College of Sciences/ University of Baghdad (2) Dept. of Biology / College of Sciences / University of Tikrit (3) Dept. of Histopathology / Central Public Health Laboratories / Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: dr_r.naji@yahoo.com

ABSTRACT

The present study aimed to examine the concordance between FISH/CISH techniques for assessment of amplification of her2neu gene in Iraqi breast carcinoma patients. Seventy four (74) Iraqi breast cancer patients were involved at the study from the Histopathology Department at the Central Public Health Laboratory in Bagdad, Iraq. Amplification of *HER2neu* was detected in (33.8%) by fluorescence *in situ* hybridization and (13.51%) showed high amplification by chromogenic *in situ* hybridization and (32.43%) showed low amplification. The results of chromogenic *in situ* hybridization were significantly correlated with the results of two-color fluorescence *in situ* hybridization with the same tumors. In addition, the study involved the correlation between *HER2/neu* level, progesterone (PR) and estrogen levels (ER).

Keywords: her2neu gene, FISH/CISH techniques, progesterone (PR) , estrogen (ER).

الملخص باللغة العربية

سعت هذه الدراسة إلى اختبار العلاقة بين طريقة التهجين الموضعي وطريقة التهجين الموضعي اللوني لقياس التعبير الكيميائي للجين her2neu لدى عينة من النساء العراقيات المصابات بسرطان الثدي، حيث تم جمع أربع وسبعين (74) عينة من النسيج الورمي لسرطان الثدي مثبتة بالفورمالين ومغمورة بشمع البارافين. أخذت هذه العينات من شعبة الفحص النسيجي في مختبر الصحة المركزي في مدينة بغداد، العراق. أظهرت النتائج أن التضاعف الجيني الموضعي كان بنسبة 33.8 % ، فيما كان النسبة بطريقة التهجين الموضعي اللوني 32.43% للتضاعف المنخفض، و 31.51% للتضاعف العالي. كما بينت النتائج توافقاً قوياً بين الطريقتين. وقد سعت الدراسة أيضاً إلى اختبار علاقة هرموني البروجيستيرون والإستروجين بالجين her 2 neu.

INTRODUCTION

Breast cancer is considered one of the most common types of cancer worldwide. The incidence rate of this type of cancer was elevated in the last few years in Iraq.

In 2011, The Iraqi Cancer Registry reported that the breast cancer was the most frequent type of cancer among women and accounted for approximately one-third of the registered female cancer (1).

Her-2/neu is a proto-oncogene located on chromosome 17q21 and encodes a 185-kD trans membrane glycoprotein. Her-2/neu belongs to the human epidermal growth factor receptor family that plays an important role in the regulation of cell growth, differentiation and survival. Her-2/neu gene was found to be over expressed, amplified or both in different human cancers, including breast cancer. Amplification of this gene was recorded to be occurred in 10-34% of breast carcinomas (2).

The studied hormonal receptors in breast cancer were estrogen receptor (ER) and progesterone receptors (PR). If the breast cancers are classified by positive immunohistochemistry (IHC) expression of ER and PR, then, they have different pathological, and molecular characteristics (3). It could be explained that risk factors are closely associated with breast tumors ER+ and PR+ ,while etiology of breast cancer ER- expression and PR- should be independent of hormone exposure (4).

Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

It is a significant technique to study chromosomal abnormality in tumor cells. The technique reached high level of detection sensitivity (individual genes can be detected), and high multiplicity (i.e. in the same nucleus several probes can be applied) (5).

This delicate process consists of hybridizing a DNA probe to its complementary sequence on chromosomal preparations. Probes commonly are labeled by two ways directly, by incorporation of fluorescent nucleotides, or indirectly, by incorporate reporter molecules to the probe, which subsequently is detected by fluorescent antibodies. Finally, probes and the targets DNA sequences are observed *in situ* by fluorescent microscope (3,6).

Chromogenic *in situ* hybridization (CISH)

Chromogenic *in situ* hybridization (CISH) technique was introduced in last few years in which the DNA probe was detected by an immune peroxidase reaction (7). This method is similar to FISH, but it does not require the fluorescence microscopy for final examination.

The bright field microscope is being used for evaluation of slides instead of florescent microscope slides, which provides more morphological features that can be observed and archived in contrast to fish slide, which cannot be archived.

Although two dual color protocol for CISH were found, this technique was basically done using one

color. The most significant advantage of the two colors is gene amplification distinguished from chromosomal aneuploidy by a reference probe, which is more accurate, faster and easier process (8).

MATERIALS AND METHODS

Patients

Seventy-four (74) Iraqi breast cancer patients who had lumpectomy with lymphnode clearance or total mastectomy were involved at the study from the archive of the center health laboratory, histopathology department, Bagdad, Iraq. Most of these cases included invasive ductal and invasive lobular carcinoma type.

Scoring of fluorescent *in situ* hybridization signal

Fluorescent *in situ* hybridization was performed with a florescent method for molecular marker (Her2/neuDNA) using kreach digestion kits and probe (POSEIDON-KREATECH, Netherland). The Her2/neu (17q12) specific delegate DNA probe was optimized to detect copy numbers of the Her2/neu gene region at region 17q12 within the cell. To facilitate her-2/neu identification, chromosome 17 Satellite (SE) was included as internal control. The probe was direct-labeled with platinum bright 495 (green region). The Her2/neu (17q12) specific DNA probe was designed as dual-color assay to chromosome 17 and amplification involving the Her2/neu gene region at (17q12), which shall show several red signals, while the chromosome 17 (internal control) centromere region shall provide 2 green signals. Otherwise, two red signals (R) and two green (G) signals will consider normal chromosomes 17(2 R2G).

Quantification of her 2/neu signals fluorescent *in situ* hybridization was detected under fluorescence microscopy at power 40x and 100x, and different filters (FITC, TRITC TAXSAS RED) for the counting of positive cells were carried out at oil immersion (100x).

Ratio of her-2/CEP17 shall be calculated and if the ratio is equal or more than two, it was considered amplified, and there is no amplification if the ratio less than two was obtained for tumor cells between 20 to 60 cells, based on kits used (POSEIDON-KREATECH, Netherland).

Scoring of chromogenic *in situ* hybridization

CISH method is depends on a simple bonding reaction of a specific DNA probe to an enzymatic indicator for create chromogenic reaction. The presence of nucleic acid sequence in cells can be detected with *in situ* hybridization using labeled DNA probes. The zyto Dot SPEC her-2/neu probe, consist of digoxigenin labeled polynucleotide which target sequence of the her -2/neu, and the

duplex formation visualized using primary anti-digoxigenin antibody, which was detected by secondary enzyme-conjugated antibody. The enzymatic reaction of DAB leads to the formation of strong permanent brown signals that can be visualized by light microscope.

The slides were stained by Zyto dot spec her-2/neu probe and kits and evaluated using a light microscope equipped with 40x dry objectives scanned for best area represented tumor.

Scoring of the signal: normal gene copy number was defined as 2 dots shaped signals per nucleus. And Low-level amplification was considered up to 5 dots signals per nucleus in 50% of counting cancer cells, or when a small gene copy cluster was noticed. High level of Amplification of HER-2 was defined when a large gene copy cluster in 50% of carcinoma cells or 5 signal or more of separate gene copies were seen. Images were captured using a Pixera PVC100C digital camera (Pixera Corp., Los Gatos, CA). Zyto Dot SPEC her-2/neu probe and kits.

The scoring protocol for ER, PR

Staining by immunohistochemistry was done as described by (9) using the commercially used ER, PR monoclonal antibodies provided by Dako company with detection kit.

RESULTS AND DISCUSSION

Distribution of sample study according to FISH results

Ratio of her-2/neu gene (red signal) to chromosome CEP17 (green signal) ratio higher than 2.2 was considered as amplification, otherwise a ratio less than 2.2 was reported as non-amplification (and a ratio between 1.8 and 2.2 was taken as an equivocal result and counting additional 20 tumor nuclei were counted for the equivocal cases (10) (table 1 and figure 1). In the present study, seventy four (74) cases were examined for her-2/neu by FISH and (58.1%) showed no amplification, while 33.8 % (25 cases) were amplified for her-2/neu gene. Many studies had confirmed the suggestion that (protein over expression without gene amplification could be as result from an increase of chromosome 17 copy number, which lead to increase the number of copies of her-2/neu per nucleus in the absence of "true" amplification of her-2/neu gene (11, 12). ASCO/CAP guidelines stated that at least 8 per cent of equivocal cases on FISH exhibit polysomy of the chromosome 17 (13).

Table (1): Distribution of sample study according to FISH results

FISH result	Number	Percentage (%)
Amplified	25	33.8
Non-amplified	43	58.1
Equivocal	6	8.1
Total	74	100%
Chi-square (χ^2)	---	12.574 **

** ($P < 0.01$).

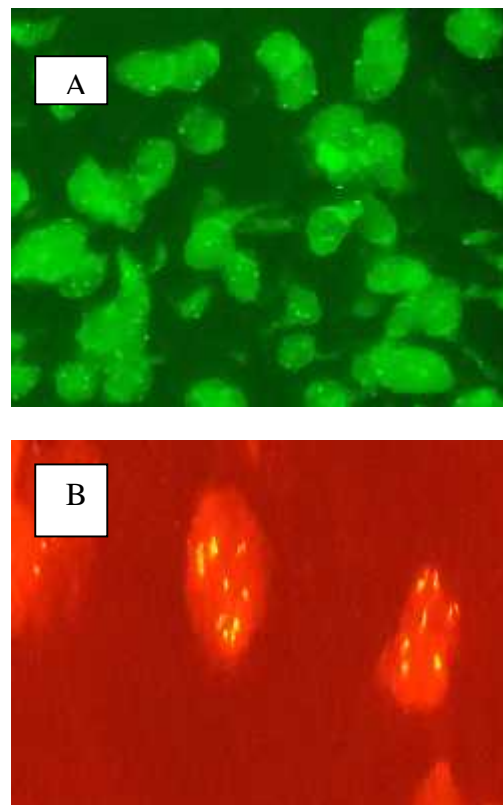


Figure (1): AFISH for HER-2/neu gene signals (Orange) amplification (more than 2 copies of gene per cell (x100). a: Polysomy of chromosome 17 (more than 2 copies per cell. (A): HER-2/neu gene signals (Orange) amplification (more than 2 copies of gene per cell. (B): polysomy of chromosome 17 (more than 2 copies per cell)

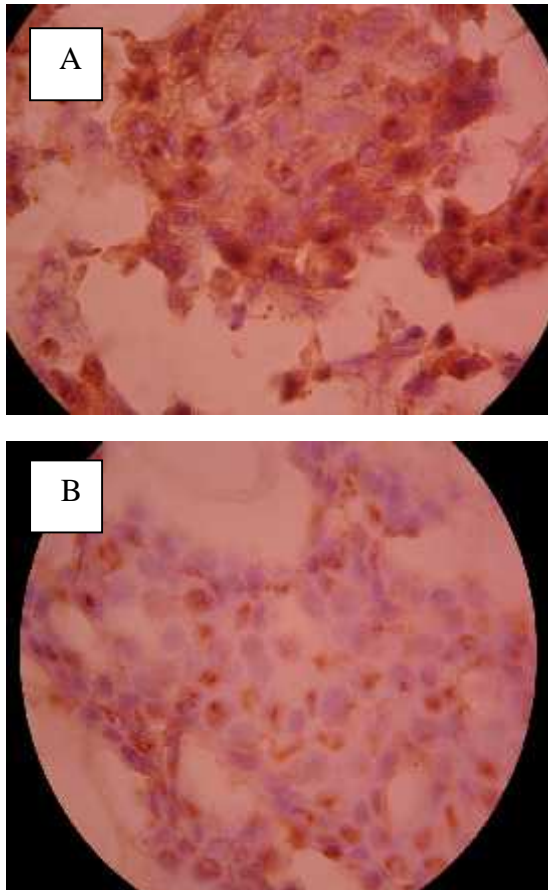
Distribution of sample study according to her-2/neu CISH

Significant difference were recorded in which 13.51% of cases had high amplification, while 32.43% had low amplification and the largest percentage 54.06% were non amplified as in table (2), figure (2). A previous study conducted by (14), the amplification was reported in all cases tested, 39 of tumors were determined as non-amplified, which were similar to the results of the present study, while 9 cases had low amplification and 27 cases had high amplification.

Table (2): Distribution of sample study according to her -2/neu CISH results

CISH result	Number	Percentage (%)
Amplified High.	10	13.51
Amplified Low.	24	32.43
Non-amplified	40	54.06
Total	74	100%
Chi-square (χ^2)	---	9.857 **

** (P<0.01)

**Figure (2): A: Low amplified 3-6 her -2/neu gene copies B: High amplified her-2/neu more than 6 gene copies of her-2/neu by CISH (X100)**

Correlation of her-2/neu amplification by FISH with estrogen receptor and progesterone receptors

A significant correlation was found in the results of the present study between hormonal receptor and her-2/neu status (table 3). A significant inverse association was noted between hormonal receptor (ER status) and her-2/neu gene amplification in the current study, and these results were in agreement with those obtained by (15). The reason for this inverse relation between hormone receptor ER and her-2/neu amplification is suggested to be due to complex interactive processes, signaling between

ER receptor and other growth factor signaling pathways in breast cancer cells (16). The results showed that 64.3 % of cases of ER positive showed non amplification of her-2/neu, while 26.2 of ER positive cases had her-2/neu amplification. The results obtained from studies (10, 17) showed that 18 % of breast cancer were both ER over expression and her-2/neu amplification, also there were significant but not inverse correlation of her 2neu with PR receptor. In the present study, 25 cases had her-2/neu amplification 46.1% and were positive for PR and 27.1% were negative. This came in concordance with (18). Several studies had suggested that ER-positive breast cancers with her-2/neu amplification could be less responsive to tamoxifen (19).

Table (3): Association of estrogen receptor and progesterone receptor by IHC with Her-2/neu amplification by FISH

	Total	Amplified N= 25	%	Non-amplified N= 43	%	Equivocal N= 6	%	Chi-Square
Estrog. receptor								
Positive	42	11	26.2	27	64.3	4	9.5	11.58 **
Negative	32	14	43.75	16	50.0	2	6.25	12.05 **
Progest. receptor								
Positive	26	12	46.1	12	46.2	2	7.7	9.97 **
Negative	48	13	27.1	31	64.6	4	8.3	12.37 **

** (P<0.01).

Correlation of her-2/neu amplification by CISH with ER,PR

There were negative relations between her-2/neu amplification and ER in our findings. Out of 32 cases were negative for ER (34.38%) and showed low amplification, while (21.87%) had high amplification and (43.75%) of ER negative cases were found non amplified as in the table (4). 48 cases of PR negative 25.00% showed low amplification and 10.42% had high amplification and 64.85% showed no amplification, where these results were in agreement with (20), who showed a significant negative association with both ER and PR positivity.

Comparison between FISH and CISH for her-2/neu amplification

There were significant correlations between FISH and CISH in which out of the 25 FISH amplified cases, 24 cases showed amplification and one showed no amplification by CISH, so the concordance was 96% between the two methods. Out of the 43 FISH non-amplified cases, 38 were non-amplified and 5 were low amplified <5 by CISH. Out of the 6 cases at the range (1.8-2.2) equivocal FISH cases, 3 showed low level of amplification with CISH and the 2 other cases had high amplifications (table 5). Our findings showed complete agreement with (21) who reported that out

of 18 cases showed amplification by FISH, 17 cases showed amplification by CISH and only one case was non amplified. In addition, out of 23 FISH non-amplified her-2/neu cases, 21 were non-amplified and two were amplified by CISH, which were very

similar to results obtained by many studies reporting that a concordance between the two methods were in the range of 83%–100% and not necessary 100% (22-24).

Table (4): Correlation of her-2/neu amplification by CISH with ER, PR

	Total	Low amplified N=24	%	High amplified N=10	%	Non amplified N=40	%	Chi-square
Estrogen receptor								
Positive	42	13	31.00	3	7.1	26	61.9	10.94 **
Negative	32	11	34.38	7	21.87	14	43.75	8.63 **
Progesterone receptor								
Positive	26	12	46.2	5	19.2	9	34.6	8.59 **
Negative	48	12	25.00	5	10.42	31	64.58	10.64 **

** (P<0.01).

Table (5): Relationship between FISH her-2/neu/cep17 and CISH number of signal

FISH her-2/neu/cep17	CISH number of signal			Chi-square (χ^2)
	>5	<5	No signal	
1.8-2.2 (n=6)	2 (33.33%)	3 (50.00%)	1 (16.67. %)	9.832 **
>2.2 (n=25)	8 (32.00%)	16 (64.00%)	1 (4.00%)	11.684 **
Non amplified (n=43)	0 (0.00%)	5 (11.6%)	38 (88.4%)	14.022 **

** (P<0.01).

A high concordance between the FISH and CISH was reported by (21), and agreed with our results as well as with those obtained by (25,26) that showed high concordance between the two methods. A recent study had considered CISH as a reasonable alternative for FISH (7). This minor difference in the result of the two methods could be due to the difference in the scoring system used for FISH, which is reported as a ratio of her-2/neu signal to the chromosome 17 signal, while CISH used in the study was single-colored assay, and only her-2/neu average number of signals was reported. One case in our study to amplification by CISH was found non-amplified by FISH, in addition this case had polysomy. Also 4 cases which are equivocal by FISH were found amplified by CISH and had polysomy of chromosome 17. The polysomy 17 was found in these cases. The reason of this erroneous of CISH results reported by (21) were in agreement with our results. This could be the major problem of single color CISH that cannot detect polysomy cases as concluded by (27), who also reported high concordance between the two methods and that 8 tumors were amplified by CISH but not by FISH. In the present study, 10 tumors were amplified by CISH but not with FISH and 5 cases were equivocal and 5 cases were non amplified by FISH. The differences between the two methods FISH and CISH is related to a lack of CISH chromosome 17 interpretation with one color CISH method.

CONCLUSION

There was a significant correlation between FISH and CISH for assessment of her-2/neu in breast cancer patients. The advantage of two-color FISH is the ability to distinguish chromosomal amplification from aneuploidy using a probe for chromosome 17 centromere, her-2/neu which is very useful for equivocal cases. This property is not found with one color CISH used in the present study.

Acknowledgements

The researchers would like to thank the staff members of Baghdad teaching hospital/Baghdad, Iraq, for funding this work.

REFERENCES

1. Iraqi Cancer Registry Center Publications (2011). Ministry of Health, Iraqi Cancer Board. Baghdad, Iraq.
2. Citri A.; Skaria KB. and Yarden Y. (2003). The deaf and the dumb: the biology of ErbB-2 and ErbB-3. *Exper. Cell. Res.* 284(1): 54-65.
3. Volpi EV. and Bridger JM. (2008). FISH glossary: an overview of the fluorescence in situ hybridization technique. *Biotechn.* 45(4): 385-386.
4. Althuis MD.; Fergenbaum JH.; Garcia-Closas M. *et. al.* (2004). Etiology of hormone receptor-defined

breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiol. Biomarker. Prev.* 13(10):1558-1568.

5. Walter J.; Joffe B.; Bolzer A.; Albiez H.; Benedetti PA.; Müller S. and Solovei I. (2006). Towards many colors in FISH on 3D-preserved interphase nuclei. *Cytogen. Genome. Res.* 114(3-4): 367-378.

6. Liehr T. and Pellestor F. (2009). Molecular cytogenetics: the standard FISH and PRINS procedure. Springer Berlin Heidelberg. Pp.: 23-34.

7. Tanner M.; Gancberg D.; Di Leo A.; Larsimont D.; Rouas G.; Piccart M. J. and Isola J. (2000). Chromogenic in situ hybridization: a practical alternative for fluorescence in situ hybridization to detect HER-2/neu oncogene amplification in archival breast cancer samples. *Am. J. Pathol.* 157(5):1467-1472.

8. Laakso M.; Tanner M. and Isola J. (2006). Dual-color chromogenic *in situ* hybridization for testing of HER-2 oncogene amplification in archival breast tumors. *J. Pathol.* 210(1): 3-9.

9. Allred DC.; Harvey JM.; Berardo M. *et. al.* (1998). Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Med. Pathol.* 11: 155-168.

10. Panjwani P.; Epari S.; Karpate A.; Shirsat H.; Rajsekharan P.; Basak R. and Desai S. (2010). Assessment of HER-2/neu status in breast cancer using fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry: Experience of a tertiary cancer referral centre in India.

11. Ma Y.; Lespagnard L.; Durbecq V.; Paesmans M.; Desmedt C.; Gomez-Galdon M. and Larsimont D. (2005). Polysomy 17 in HER-2/neu status elaboration in breast cancer: effect on daily practice. *Clin. Cancer Res.* 11(12):4393-4399.

12. Downs-Kelly E.; Yoder BJ.; Stoler M.; Tubbs RR.; Skacel M.; Grogan T. and Hicks DG. (2005). The influence of polysomy 17 on HER2 gene and protein expression in adenocarcinoma of the breast: a fluorescent *in situ* hybridization, immunohistochemical, and isotopic mRNA in situ hybridization study. *Am. J. Surg. Pathol.* 29(9):1221-1227.

13. Wolff AC.; Hammond MEH.; Schwartz JN.; Hagerty KL.; Allred DC.; Cote R J. and Hayes DF. (2007). College of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer- special article. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 131(1): 18-43.

14. Arnould L.; Denoux Y.; MacGrogan G.; Penault-Llorca F.; Fiche M.; Treilleux I. and Couturier J. (2003). Agreement between chromogenic in situ hybridisation (CISH) and FISH in the determination of HER2 status in breast cancer. *Brit. J. Cancer.* 88(10): 1587-1591.

15. Prati R.; Apple SK.; He J.; Gornbein JA. and Chang HR. (2005). Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer. *Breast J.* 11(6):433-439.

16. Massarweh S. and Schiff R. (2006). Resistance to endocrine therapy in breast cancer: exploiting

estrogen receptor/growth factor signaling crosstalk. *Endoc. Related Cancer*, 13(Supplement 1): S15-S24.

17. Kalal IG.; Vijayalaxmi K.; Babu SJ. and Vijay ARP. (2012). Evaluation of HER-2/neu status in breast cancer specimens using immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) assay. *Indian J. Med. Res.* 135(3): 312.

18. Gullick WJ.; Love SB.; Wright C.; Barnes DM.; Gusterson B.; Harris A L. and Altman DG. (1991). c-erbB-2 protein over expression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Brit. J. Cancer.* 63(3): 434.

19. Pinto AE.; Andre S.; Pereira T.; Nobrega S. and Soares J. (2001). C-erbB-2 oncoprotein over expression identifies a subgroup of estrogen receptor positive (ER+) breast cancer patients with poor prognosis. *Annal. Oncol.* 12(4): 525-533.

20. Barros FFT. (2013). Biological characterization of HER2 amplified breast cancer. PhD. Thesis. University of Nottingham.

21. Shirsat HS.; Epari S.; Shet T.; Bagal R.; Hawaldar R. and Desai SB. (2012). HER 2 status in invasive breast cancer: Immunohistochemistry, fluorescence *in-situ* hybridization and chromogenic *in-situ* hybridization. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 55(2): 175.

22. Gupta D.; Middleton LP.; Whitaker MJ. and Abrams J. (2003). Comparison of fluorescence and chromogenic in situ hybridization for detection of HER-2/neu oncogene in breast cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* 119(3):381-387.

23. Loring P.; Cummins R.; O'Grady A. and Kay EW. (2005). HER2 positivity in breast carcinoma: a comparison of chromogenic in situ hybridization with fluorescence in situ hybridization in tissue microarrays, with targeted evaluation of intratumoral heterogeneity by in situ hybridization. *Appl. Immunohistochem. Molec. Morphol.* 13(2): 194-200.

24. Bhargava R.; Lal P. and Chen B. (2005). Chromogenic in situ hybridization for the detection of HER-2/neu gene amplification in breast cancer with an emphasis on tumors with borderline and low-level amplification. Does it measure up to fluorescence *in situ* hybridization?. *Am. J. Clin. Pathol.* 123(2):237-243.

25. Pothos A.; Plastira K.; Plastiras A.; Vlachodimitropoulos D.; Goutas N. and Angelopoulou R. (2008). Comparison of chromogenic in situ hybridisation with fluorescence in situ hybridisation and immunohistochemistry for the assessment of her-2/neu oncogene in archival material of breast carcinoma. *Acta. Histochem. Cytochem.* 41(3):59-62.

26. Saez A.; Andreu FJ.; Segui MA.; Bare ML.; Fernandez S.; Dinares C. and Rey M. (2006). HER-2 gene amplification by chromogenic in situ hybridisation (CISH) compared with fluorescence in situ hybridisation (FISH) in breast cancer: a study of two hundred cases. *Breast.* 15(4):519-527.

27. Isola J.; Tanner M.; Forsyth A.; Cooke TG.; Watters AD. and Bartlett JM . (2004). Interlaboratory comparison of HER-2 oncogene amplification as detected by chromogenic and fluorescence in situ hybridization. Clin. Cancer Res. 10: 4793-4798.

Prevalence of scabies in Anbar province / west of Iraq

Abdullah S. Hasan

Dept. of Dermatology / Faculty of Medicine/ University of Anbar/ Republic of Iraq

E –mail: alhasan_777@yahoo.com

ABSTRACT

The frequency and prevalence of scabies *Sarcoptes scabiei* with some possible risk factors were studied in Anbar province, Iraq between May 2010 to February 2011. It was found that out of 401 patients with skin diseases there were 200 scabies infestation cases (49.87%). Scabies frequency in women (65%) was highly significant ($p < 0.001$) compared to men. Higher scabies cases in rural (61%) then in urban residents. As age groups increased from 13 years to >60 years scabies incidents decreased from 31.5% to 5.5% respectively. It was also found that the number of scabies patients declined as the education level progresses from illiteracy (46.2%) to college level (1%). Other possible risk factors studied were inconsistent as factors affecting scabies infestation in this study.

Keywords: scabies, pruritus, Anbar province

الملخص باللغة العربية

سعت هذه الدراسة إلى متابعة الانتشار الطيفي لمرض الجرب والأسباب الموجبة لانتشاره في محافظة الأنبار في العراق خلال الفترة من شهر مايو / أيار عام 2010 إلى شهر فبراير / شباط عام 2011. وقد جرى متابعة ودراسة (401) حالة مرضية وهي التي مثلت عينة الدراسة. بينت النتائج أن هناك (200) حالة مصحوبة بعلامات واضحة في الجلد. كما تبين أن عدد الإصابات في الإناث كان أكبر من الذكور، كذلك عدد الإصابات في المناطق الريفية كان أكثر من عدد الإصابات في داخل المدن. أثبتت نتائج الدراسة بدورها أن عدد الإصابات بالفئات العمرية الصغيرة كان أكثر من الفئات العمرية الكبيرة، حيث بلغت نسبة الإصابات (31.5%) إلى (5.5%) على التوالي. كما أثبتت النتائج أن الإصابات تكون مرتفعة عند الأشخاص الذين لا يتمتعون بدرجة تعليمية أو ثقافية بنسبة (46.2%) إلى 1% عند الأشخاص المتعلمين والمتقنين. أوضحت الدراسة أيضاً أن هناك عوامل أخرى تسهم في الإصابة بمرض الجرب وانتشاره، والتي تم تحديدها فيها حيث لم يتم دراستها سابقاً.

INTRODUCTION

Scabies is a skin disease caused by the mite *Sarcoptes scabiei* and is endemic in resource-poor urban and rural communities throughout the world. (1). Scabies is spread mainly through direct skin to skin contact with an infected person or by contaminated beddings, clothing and towels. (2). The parasites largely target poor people of undeveloped regions with poor hygienic levels (3). The Department of Health of South Australia (2008) pointed out that scabies infestation is not an indication of poor hygiene and social class (4). Approximately 300 million people are infected with Scabies worldwide (5).

Characteristics and symptoms of the disease are lesions at the mite innovation sites with chronic scratching and redness of the skin appear 4-6 weeks after infection and itching, more so at night. The itching is due to allergic reaction. These symptoms are as a result of burrow sites by the female mite to lay eggs and hatch and become adult mites within of days. The mite is tiny (0.2-0.4mm long) (6). Burrow sites of infestation are found on soft and thin skin and folds surfaces like axilla, elbows, finger webs, genitalia, buttocks, waists and knees. Symptoms of scabies may persist up to 12 months following treatments, and patients who completes treatment may still be contagious (7).

The most effective and safest treatment is believed to be permethrin 5% Scabicide cream preparation. The cream is applied on whole body and left for 8-14 hours (8). Kala (2011) reported that many herbal plant healers have been traditionally used as anti-scabies and other skin diseases in India (9).

Crusted Norwegian scabies is a rare manifestation of scabies characterized by crusted lesions uncontrolled perforation of mites in the skin. The occurrence of the disease in human is related to poor immune system and virus infected patients (10).

In Iraq, limited relied community based data on the prevalence of scabies is available. During the last few decades, scabies infection in Iraq was scarce. After the occupation of Iraq by the US, British and their allies in 2003, scabies patients were significantly increased, may due to tens of thousands of prisoners, declining hygiene standards ...etc.

Therefore, this study was devoted to survey the prevalence of scabies in the largest province in Iraq (Anbar) during 2007-2011 in a Dermatology Private Clinic in Ramadi, the capital of the province. The study also aimed to assess possible risk factors may be related to the disease including socioeconomic, education, age, sex, and prisoners' contacts.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in Ramadi city, the largest province west of Iraq. The city is about 600.000 inhabitants, located 120 Kilometers west of Baghdad, the capital of Iraq. All patients and control

(with no scabies) who presented to the Private Dermatology Clinic in Ramadi during a period of nine months (19 May 2010 to 15 February 2011) were included in the study. Generally, the patients visited the dermatology clinic from different towns in Anbar province. A presumptive diagnosis of scabies was based on symptomatic complaints of pruritus and physical examination of the sites involved. The entire body of each patient was examined. Cases of scabies were diagnosed by to the senior dermatologist in the private clinic. After that, Patients were sent to the researcher in another room where patients were asked using suitable questionnaire. Scabies was diagnosed grossly, microscopically and clinically for the presence of burrows or erythematous popular vesicular, postural or lesions associated with different degrees of itching as absent, weak, moderate or severe and family history if other family member with similar symptoms. A Consent was taken from each patient with the approval of the dean of the College of Medicine, University of Anbar for the ethics of the study.

Statistical analysis

Frequency procedures of (2004) were utilized to calculate frequency and percentages. Chi-Square test was utilized to test if differences are present among different levels of two factors tested for all different factors in the study. Logistic procedure of SAS (2004) was utilized to calculate risk factors by computing odds ratio and 95% confidence interval by multivariate logistic regression analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Out of a total sample of (401) patients of different skin diseases presented to the Dermatology Clinic, there were 200 scabies infestation positive and 201 negative. Figure (1) represents the distribution of scabies patients with relation to variable age groups. Out of the total patients, 49.87% were infected with scabies. The highest scabies incidents were in the age group (13-29) years old. This age group is considered most active and interacted with the surrounding environment. As the age groups increase from 13-50 scabies patients were less reaching a minimum of 5.5% in simple Chi-Square analysis. The frequency of scabies patients with female (65%) was highly significant compared to male (35%) (table 1).

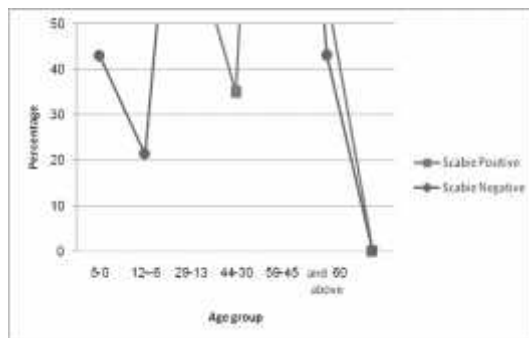


Figure (1): Frequency and percentages of scabies patients and healthy individuals in the study with different age groups

Table (1): Frequency and percentages of scabies patients and healthy individuals in the study with different age groups

Scabies	Genders	F	M
Negative	Frequency	43	158
	Percentage	21.39	78.61
Positive	Frequency	130	70
	Percentage	65	35
Total	Frequency	173	228
	Percentage	43.14	56.86

Chi square test between genders and incidence of Scabies at $p < 0.01$

Results obtained from a study conducted in Brazil (11) found no consistence pattern of age distribution in scabies patients, which comprised 8.8% of population in slum urban population in Brazil. This result may suggest that women may be exposed to the mite infestation more than men. This result also showed that higher incidents of scabies patients are found in the rural residents (61.06%) more than in Urban (table 2). This may be due to less health education in rural societies than in urban. Figure (2) shows the relationship between scabies patient infestation and the level of education. It was found that as the education level progresses from illiteracy (46%), primary, secondary, high school and institution and colleges (1%), the scabies patients would decrease. Education seems to give persons the ability of understanding health and frequency of diseases with methods of control and treatments more than uneducated people.

From a total skin disease patients of 259 studied with relation to their income levels of thousand Iraqi Dinar/month there were 58 (22.3%) scabies patients. Scabies infestation frequency and percentage with relation to the income levels of their families were found to be variable (figure 3). It is interesting to note that the highest incidence of infestation in this study was in the highest income group 18 out 58 scabies patients, which represents (31%). Similar results were found with the two highest income levels of individual (percapita) (figure 4) and the lowest was in the lowest income group.

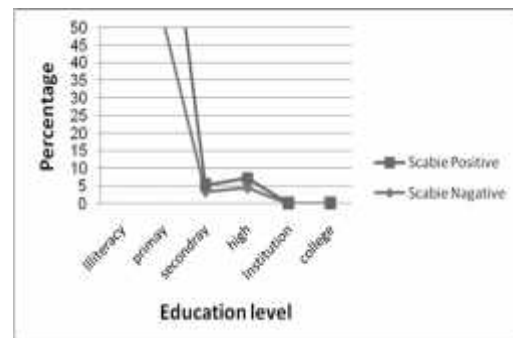


Figure (2) : Ratio of scabies patients versus their education levels

Table (2): : Frequency and percentages of scabies patients and healthy individuals in the study with different residence

Scabies	Residence	Rural	Urban
Negative	Frequency	97	104
	Percentage	48.26	51.74
Positive	Frequency	69	44
	Percentage	61.06	38.94
Total	Frequency	166	148
	Percentage	52.87	47.13

Chi square test between residence and incidence of Scabies at $p < 0.01$

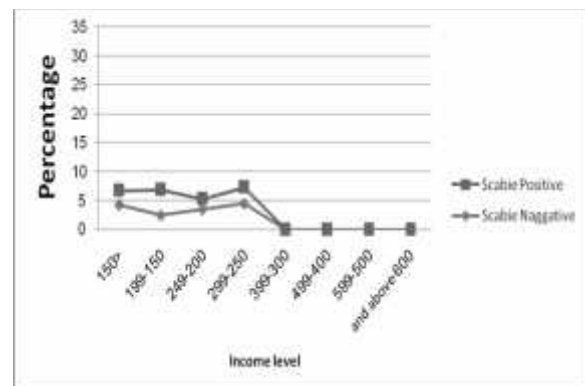


Figure (3): Frequency and percentages of scabies patients regarding their month income

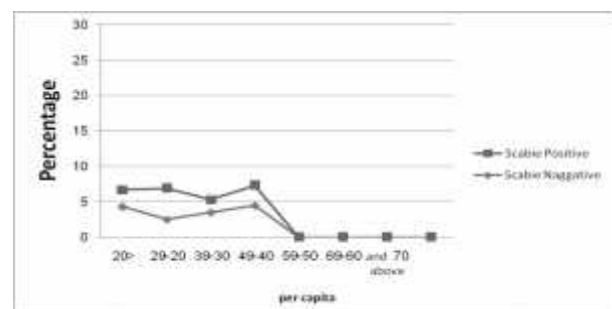


Figure (4): Frequency and percentages of Scabies patients and healthy individuals in the study with different per capita levels

The frequency of percentages of scabies patients with relations to the number of family number are presented in figure (5). It was found that the highest incidents of scabies patients is in the highest family number group of 10 or more. It represented 23(22.3%) out of a total interviewed patients of 103 scabies patients, which is 25.8% out of a total 314 skin disease patients. The lowest scabies patients were found to be in the lowest family number of 2, which was only about 2%.

The study also examined the effects of sharing towels and blankets, having showers daily, the presence of animals in the house, and the presence of neglected persons on the scabies infestation spreading within the family members, which were found to be variable and not consistent (table 3). Data collected from patients revealed that these factors are not considered valid for scabies mite infestation within the family members surveyed.

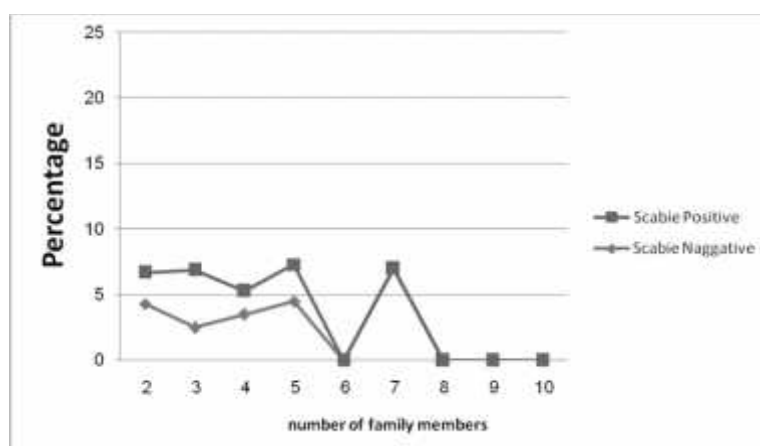


Figure (5): Frequency and percentages of Scabies patients and healthy individuals in the study with number of family members

Table (3): : Frequency and percentages of scabies patients and healthy individuals in the study related to variable factors

Scabies	Factors	Sharing towel and blanket		Washing daily		Presence of Animals		Presence of neglected person	
		No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes
Negative	Frequency	52	149	7	194	110	91	170	31
	Percent	25.87	74.13	3.48	96.52	54.73	45.27	84.58	15.42
Positive	Frequency	123	64	10	190	89	13	97	3
	Percent	65.78	34.22	5	95	87.25	12.75	97	3
Total	Frequency	175	213	17	384	199	104	267	34
	Percent	45.10	54.90	4.24	95.76	65.68	34.32	88.70	11.30

Chi square test between each factor with incidence of scabies at $p < 0.01$

Table (4) shows the results of logistic regression analysis and the trend of significance of scabies patients. It was found that age groups and education

levels are highly significant ($P < 0.001$) factors affecting scabies patient infestation in this study.

Table (4): Logistic regression analysis results

Factors	DF	Chi-Square	Pr>Chi Square
Age	5	7.4934	0.1865
Gender	1	18.5751	<.0001
Residence	1	0.0963	0.7563
Education levels	5	20.5668	0.001
Number of family members	8	10.2934	0.245
Sharing towel blanket	1	3.2998	0.0693
Washing daily	1	0.0018	0.9659
Presence of Animals	1	6.2694	0.0123
Presence of neglected person	1	3.9776	0.0461

The presence of animals and the presence of neglected persons are significant ($P=0.0123$ and $P=0.0461$ respectively). Other factors (Gender, number of family sharing towels and blankets and showering) were non-significant. Table (5) represents the odds ratio and multiple logistic regression and probability test of mean values of

different factors affecting scabies infestation. It was found that gender is highly significant ($p<0.001$) and the presence of animals and neglected persons in the house were significant ($P=0.0123$ and $P=0.10401$) respectively.

Table (5): Odds ratio, 95% Wald Confidence Limits, and probability for X^2 test of multiple logistic regression

Factors	Level		Level	Odds Ratio	95% Wald Confidence Limits		Pr>Chi Square
Age	1	Vs	6	95.687	<0.001	>999.999	0.9771
Age	2	Vs	6	>999.999	<0.001	>999.999	0.9375
Age	3	Vs	6	>999.999	<0.001	>999.999	0.9794
Age	4	Vs	6	>999.999	<0.001	>999.999	0.9911
Age	5	Vs	6	>999.999	<0.001	>999.999	0.9805
Gender	F	Vs	M	310.264	22834	>999.999	<.0001
Residence	0	Vs	1	0.757	0.131	4.379	0.7563
Education levels	0	Vs	5	>999.999	<0.001	>999.999	0.8603
Education levels	1	Vs	5	>999.999	48.703	>999.999	0.9223
Education levels	2	Vs	5	526.678	20.229	>999.999	0.8966
Education levels	3	Vs	5	>999.999	42.392	>999.999	0.9477
Education levels	4	Vs	5	120.183	1.556	>999.999	0.8477
Number of family members	2	Vs	10	<0.001	<0.001	>999.999	0.9308
Number of family members	3	Vs	10	0.07	0.002	2.557	0.9298
Number of family members	4	Vs	10	0.007	<0.001	0.259	0.9547
Number of family members	5	Vs	10	0.01	<0.001	0.3	0.9755
Number of family members	6	Vs	10	0.041	0.002	0.866	0.956
Number of family members	7	Vs	10	0.039	0.001	1.316	0.9592
Number of family members	8	Vs	10	0.534	0.023	12.664	0.826
Number of family members	9	Vs	10	0.106	0.002	4.981	0.909
Sharing towel and blanket	0	Vs	1	4.844	0.883	26.575	0.0693
Washing daily	0	Vs	1	0.013	<0.001	>999.999	0.9659
Presence of Animals	0	Vs	1	23.512	1.986	278.414	0.0123
Presence of neglected person	0	Vs	1	32.343	1.062	985.126	0.0461

Watkins (2010) reported that scabies infestation can be spread rapidly in schools by direct contact between pupils (12). Therefore, school health agents should be able to recognize scabies symptoms and offer appropriate advice to families and school employees to control further spread in the school and the community. Raza *et. al.* (13) identified risk factors for scabies among male soldiers in Pakistan including itching in family, dormitory males,

infrequent bathing, infrequent changing clothes, low education and sharing beds. They pointed out that overcrowding, large family size and sharing of towels and hospitalization were not risk factors. Andersen (2004) added that education assessment and treatment of the disease are more important measures to control the disease (14). Scabies lesions generally present as small erythematous papules.

Infections and allergic reaction can result from scratching.

Watkins (2012) revealed that scabies female deposits its eggs under the skin and dies after about a hatched month. The eggs are hatched after two days and the male dies after mating (15).

Venna *et. al.* (2001) described the infestation and life cycle of scabies and lice, risk factors and medical and non-medical treatments (16). Olley (2011) stated that scabies is associated with close proximity like care homes and the spread of infection rather difficult to control (17). Risk assessment for contact tracing of scabies infections are divided into 3 risk levels, high, which includes workers with intimate direct contacts, medium, which includes workers with intermittent contact and, low for those who have no intimate contact (18). A study conducted by Tjioe and Rissers (19) discussed life cycle, clinical preventative, epidemiology, diagnosis, treatment and control. A delay in diagnosis may induce rapid spread of scabies disease in mentally retarded and elderly patients. Immediate diagnosis and treatment are therefore necessary. Normal scabies (*Scabies vulgaris*) and crusted (*scabies crustos, novegica*) can be healed by effective treatments or topical application of permethrin 5% and 2 oral doses of ivermectin 200_{ug}/kg (one week apart). Currie and McCarthy (2010) discussed the therapeutics recommendation of permethrin and ivermectin for scabies and the clinical problem and the mechanism of their benefit and potential adverse effects (20). Sharma and Singal (2011) believed that permethrin had a rapid onset of action (21).

REFERENCES

1. Kristensen JK. (1995). Scabies and pyoderma in Lilongwe, Malawi: prevalence and seasonal fluctuation. *Int. J. Dermatol.* 30: 699-702.
2. Department of Public Health, Division of Communicable Disease Control, State of California (2008). Scabies, MS 7307, Sacramento, CA.
3. Zitelli B. and Davis H. (1997). *Atlas Pediatric Physical Diagnosis*. 3rded. St. Louis, Mo: Mosby. pp.: 239-240, 549-550.
4. Department of Health, Government of South Australia (2008). Public Health Fact Sheet Website WWW.health.sa.gov.au/pehs/envirohealth-index.htm
5. Johnstone P. and Strong M. (2008). Scabies, clinical evidence. BMJ Publishing Group Ltd. UK. 8: 1707.
6. Department of Public Health, Division of Communicable Disease Control, State of California (2010). Scabies, MS 7307, Sacramento, CA
7. Lafuente CR. (2003). Is it scabies? How to tell. *Nurs. Pract.* 6(6): 57-59.
8. Hansen RC. (1999). Scabies: treatment following diagnosis. *Health Line.* 16(12):1-3.
9. Kala CP. (2011). Medicinal plants used for dermatological disorders: a study of Uttarakhand and

state in India. *Austr. J. Med. Herbal.* 23(3): 132-137.

10. Karthikeyan K. (2009). Crusted scabies. *Indian. J. Dermatol.* 75:340-347.
11. Heukelbach J.; Willke T.; Winter B. and Feldmeier H. (2005). Epidemiology and morbidity of scabies and pediculosis capitis in resource-poor communities in Brazil. *Brit. J. Dermatol.* 153: 150-156.
12. Watkins J. (2010). Preventing scabies outbreaks in schools. *Brit. Sch. Nurs.* 5(4): 167-171.
13. Roza N.; Qadir SNR. and Agha H. (2009) Risk factors for scabies among male soldiers in Pakistan: case-control study. *East. Mediter. Health J.* 15(5):1105-1110.
14. Andersen E. (2004). That little itch: responding to scabies in the workplace, clinical rounds: *Hosp. Link.* 52(6):227-229.
15. Watkins J. (2012). Identifying parasite infestations. Part 2: from scabies to bed bugs. *Brit. J. Sch. Nurs.* 6(10): 479-480.
16. Venna S.; Fleischer JAB. and Feldman SR. (2001). Scabies and lice: review of the clinical features and management. *Dermatol. Nurs.* 13(4): 257-262.
17. Olley M. (2011). Why you need to know about scabies infections. *Nurs. Residenc. Cares.* 13(6): 286-289.
18. Alsamarai AM. (2009). Frequency of Scabies in Iraq: Survey in A dermatology Clinic. *J. Infect. Div. Ctries.* 3(10): 789-793.
19. Tjioe A. and Rissers W. (2008). Scabies outbreaks in nursing homes for the elderly, recognition, treatment options and control of reinfestation. *Drug Aging.* 25(4):299-306.
20. Currie BJ. and McCarthy JS. (2010). Permethrin and Ivermectin for scabies. *N. Engl. J. Med.* 362(2):717-725.
21. Sharma R. and Singal A. (2011). Topical Permethrin and oral Ivermectin in the management of scabies: a prospective, randomized, double blind, controlled study. *Indian J. Dermatol.* 77(5): 581-586.

Study of paronychia as risk factor of diabetic patients in Ramadi province

Waleed I. A. Al-Obaidi, Thamir A. Alkubaisi and Zainab K. Abaas

College of Medicine / Al- Anbar University / Republic of Iraq

E –mail: drwaleed55@yahoo.com

ABSTRACT

Paronychia is an acute and chronic inflammation (bacterial and fungal) of skin surrounds a toenail or fingernail due to exposure to moisture or harsh chemical for long periods. The aim of the present study was to investigate the paronychia in diabetic patients visiting Al-Ramadi General Teaching Hospital. A total of (135) patients with nail infection were categorized into two groups according to disease status: 89 patients (acute paronychia) and 46 patients (chronic paronychia). Out of 135 patients, 59 were diabetic women and men and the other 63 patients were not suffered from diabetes, but they were antibiotics abuse, while 13 patients; nor diabetic neither antibiotics abuse. Gram positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* showed high incidence of infection in acute cases, while *candida albicans* showed high incidence of infection in chronic cases. Paronychia is more common in adult women than men. Acute and chronic paronychia infections are more occurred among diabetic patient and antibiotic users.

Keywords: Paronychia, Diabetes, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *candida albicans*

الملخص باللغة العربية

الداحس هو التهاب حاد ومزمن تسببه البكتيريا والفطريات في الجلد المحيط بالأظافر بسبب تعرضها للرطوبة أو لعوامل كيميائية لفترات طويلة من الزمن. هدفت هذه الدراسة إلى التحقق من الإصابة بالداحس لدى مرضى السكري الذين يترددون على مستشفى الرمادي التعليمي العام. شملت عينة الدراسة 135 مريضاً يعانون من عدوى الأظافر وجرى تقسيمهم إلى مجموعتين وفقاً لحالة المرض: 89 مريضاً (الداحس الحاد) و 46 مريضاً (الداحس المزمن). ومن 135 مريضاً، 59 من النساء والرجال المصابين بالسكري، و 63 مريضاً آخر لا يعانون من مرض السكري، في حين أنهم يتناولون المضادات الحيوية. وكان 13 مريضاً لا يعانون من السكري ولا يتناولون المضادات الحيوية. بينت نتائج الدراسة أن العدوى بسبب بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية والمكورات المسببة قد أظهرت ارتفاعاً في الحالات الحادة، في حين أظهرت المبيضات البيضاء عدوى ارتفاعاً في الحالات المزمنة. هذا ويعتبر الداحس الأكثر شيوعاً في النساء البالغات عن الرجال، ويمكن الاستنتاج بأن التهابات الداحس الحادة والمزمنة تكثر لدى مرضى السكري ومن يتناولون المضادات الحيوية.

INTRODUCTION

Paronychia is either acute paronychia (an infection of the folds of tissue surrounding the nail of a finger or, less commonly, a toe, lasting less than six weeks) or chronic paronychia (an infection of the folds of tissue surrounding the nail of a finger or, less commonly, a toe, lasting more than six weeks) (1,2). Paronychia is either acute paronychia (an infection of the folds of tissue surrounding the nail of a finger or, less commonly, a toe, lasting less than six weeks) or chronic paronychia (an infection of the folds of tissue surrounding the nail of a finger or, less commonly, a toe, lasting more than six weeks) (1,2). The infection generally starts in the paronychium at the side of the nail, with local redness, swelling, and pain (3). The risk of paronychia increases in patients suffered from diabetes (4), due to decline of immune response (5). Bacteria such as *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) and *Streptococcus pyogenes* were responsible for acute causes (6,7). Acute paronychia is usually precipitated by direct or indirect trauma to the cuticle or nail fold, and may be from relatively minor events, such as dishwashing, an injury from a splinter or thorn, nail biting, biting or picking at a hangnail, finger sucking, an ingrown nail, or manicure procedures. In chronic paronychia, the cuticle separates from the nail plate, leaving the region between the proximal nail fold and the nail plate vulnerable to infection (4). Paronychia might be associated with diabetes, drug-induced immunosuppression (5), or systemic diseases such as pemphigus (6). Health services were affected by wars, widespread violence and internal displaced movements (7,8). Several articles stressed on difficulties in glycemic control or misuse of antibiotic (9,10). The western region of Iraq suffered from all these circumstances. Thus, this study was carried out to throw a light on one of paronychia risk factors, diabetics in patients attending the Al-Ramadi General Teaching Hospital.

MATERIALS AND METHODS

Patients

A total sample of (135) patients with nail infection were included in this study. They were recruited for the period 2nd May to 30th October 2014. Out of 135 patients, 59 were diabetic women and men and 63 non-diabetic patients, but they were antibiotics abuse, while 13 another patient; nor diabetic neither antibiotics abuse.

Specimens collections

Pus or exudate and affected nails were swabbed with sterile swabs for affected areas. Swabs were kept in sterile test tubes for bacteriological study.

Bacterial and fungal isolations and characterization were done by using standard methods (11).

Blood glucose level determination

To confirm the diabetic status of patients, blood glucose levels were determined (12).

Case history

The forms were used to categorize the patients if they are diabetic or used antibiotics not prescribed by physician.

Statistical analysis

Student test was used to explain results obtained.

RESULTS

Table (1) shows the types of microorganisms isolated from patients with paronychia attending Al-Ramadi General Teaching Hospital. Gram positive cocci (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*) were isolated from acute cases only, on other hand *Candida albicans* was isolated from patients with chronic paronychia exclusively. Gram negative rods (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*) were isolated from both acute and chronic paronychia. Fifty-nine (48%) of the studied patients were diabetic, as judged by the case history and confirmed by fasting blood glucose level (data not shown). Adult women showed the majority percentage (42) (71.2%). Antibiotics abuse also revealed another risk factor for paronychia, 63 (51.6%) of positive cases for paronychia used antibiotics without need or prescribed by physician. Female represented superior than male and accounted 39(61.9%) against 24(38.1%) (table 2). Statistical analysis revealed highly significant difference between women diabetic and antibiotic users more than in men ($p < 0.01$).

Table (1): Isolation of microorganisms from chronic and acute paronychia

Isolates	No. of isolates	
	Acute infection	Chronic infection
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	18	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	10
<i>Proteus vulgaris</i>	10	8
<i>Escherichia coli</i>	8	6
<i>Klebsiella spp.</i>	6	3
<i>Candida albicans</i>	0	18

Table (2): The predisposing factors of paronychia

Predisposing factors	Women		Men	
	No.	%	No.	%
Diabetic patients	42	71.2	17	28.8
Antibiotic uses	39	61.9	24	38.1
Total	81	66.4	41	33.6

DISCUSSION

The present study was conducted in area suffered from war and displacement and relocation of people and showed that the female more susceptible to paronychia. That not surprised, because other researcher shows the same finding previously (13,14). The wet conditions during the housewife work might explain this finding, wet conditions (house-wife work) is causing loss of nail cuticle following separation of proximal and lateral nail folds which creates a dead space allowing the entrance of water (15,16), detergent and bacteria or candida under the nail folds followed by inflammation leading to main feature of chronic paronychia. Minor traumas and manicuring predispose to acute paronychia (17), which might contribute to female predominance in this study. A male predominance was observed in elderly patients (data not shown in tables). This finding might be attributed to the reduction of wet conditions in housewife working and manicuring process among females in their elderly age. In the line of other studies (18), acute paronychia was a predominant one. The main factor associated with the development of acute paronychia is direct or indirect trauma to the cuticle or nail fold. This enables pathogens to inoculate the nail, resulting in infection. The most common cause of acute paronychia is direct or indirect trauma to the cuticle or nail fold. Such trauma may be relatively minor, resulting from ordinary events, such as dishwashing, an injury from a splinter or thorn, nail biting, finger sucking, an ingrown nail, pushing back the cuticles, artificial nail application, or other nail manipulation (19). The finding that gram positive cocci and gram negative rods were isolated from patients with paronychia is consistent with that of studies from Iraq (17). However, it is inconsistent with that from developed countries e.g. USA (19, 20), which reported gram positive cocci only. This difference might be attributed to the difference in environmental sanitation between Iraq (developing country) and developed country. Contact with animals, no sewage disposal, and shortage of preventive services ...etc, or predisposing factors e.g. biting or sucking finger as cause of trauma. The study revealed that 40% of chronic paronychia cases showed *candida albicans*. The observed high rate of *candida albicans* might be attributed to the high prevalence of diabetes mellitus in Iraq. Last Iraqi national survey documented a high prevalence of hyperglycemia (20). It was mentioned that diabetic patients easily get fungal infection (21). The

observed rate of *candida albicans* (40%) is similar to that reported in India (41%) (22). Rate of *candida albicans* in chronic paronychia (40%) is much lower than that reported in Iran (84%) (23). The difference might be attributed to differences in life style. Difference in sample might be contributed to this variation, also. It was a growing trend of fingernail onychomycoses in Iran in the last decades (24).

REFERENCES

1. Ritting AW.; O'Malley MP. and Rodner CM. (2012). Acute paronychia. J. Hand. Surg. 37 (5): 1068–1070.
2. Rigopoulos D.; Larios G.; Gregoriou S. and Alevizos A. (2008). Acute and chronic paronychia. Am. Fam. Physician. 77 (3): 339–346.
3. Lee HE.; Wong WR.; Lee MC. and Hong HS.(2004) .Acute paronychia heralding the exacerbation of pemphigus vulgaris. Int. J .Clin. Pract. 58(12):1174-1176.
4. Turkmen A.; Warner RM. and Page RE. (2004). Digital pressure test for paronychia. Brit. J. Plast. Surg. 57(1):93-94.
5. Douri FE. (2007). Superficial fungal infection of the skin in patients with rheumatoid arthritis after methotrexate therapy. Iraq Postgrad. Med. J. 6: 352-355.
6. Lieb J.; Levitt J. and Sapadin AN. (2006). Nail findings in pemphigus vulgaris. Int. J. Dermatol. 45(2):172-174.
7. Al-Qaisi O. and Al-Diwan JK. (2015). Glycemic control among adult diabetics in post-conflict Iraq. J. Arab. Board. Health Special. 16: 9-16.
8. Brookings institute. (2016). Humanitarian issues and politics in Iraq. Available at: Brookings/fp/projects/idp/20070214_Ferri_iraqstmt.pdf
9. UNAMI. (2015). Report on the protection of civilian in the armed conflict in Iraq: I May – 31 October. Available at: Uniraq.org/image/humanrights/UNAMIOHCHR_%20poc%20Report_Final_01%20May-31October%202015_Final_11Jan2016.pdf
10. Al-Alwan A. (2004). Health in Iraq: a draft prepared for discussion purpose for the first conference on health. Ministry of Health, Iraq.
11. Baily A. and Scotti S. (2007). Diagnostic Microbiology. Immunology methods used for organism detection. 11th ed. P.:184.
12. Chelikani P.; Fita I. and Loewen PC. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. Cell. Mol. Life. Sci. 61(2):192-208.
13. Srikumar C. and Nagaraja HS. (2010). A comprehensive review of the occurrence and management of systemic candidiasis as an opportunistic infection. Microbiol. J. 1(2):1-5.
14. Deorukhkar S. and Saini SB. (2012). Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* species isolated from blood stream infections. J. Med. Dental. Sci. 1:241-249.

15. Sharquie KE.; Al-Salloum SM. and Al-Saadi RN. (1990). Microbiology of chronic paronychia in Iraq housewives. J. Pan. Arab. Leag. Dermatologists. 1:17-23.
16. Sharquie KE.; Noaimi AA. and Galib SA. (2013). Treatment of chronic paronychia: a double blind comparative clinical trial using single vasline, nystatin, and fucidic acid ointment. JCDSA. 3: 250-255.
17. Hussein AH. and Ali SJ. (2010). Microbial causes of paronychia. Zanco. J. Med. Sci.14:90-94.
18. Elseed YHA.; Mahgoub MO.; Mahmoud MA.; Algader OE. and Okasha TB. (2015). Aerobic bacteria associated with their susceptibility pattern to antibiotic. Am. J. Med. Res. 3:31-37.
19. Dimitris R.; George L. and Stomatis G. (2008). Acute and chronic paronychia. Am. Fam. Physician. 77: 339-346.
20. Rockwell PG. (2001). Acute and chronic paronychia. Am. Fam. Physician. 63(6):1113-1116.
21. Directorate of Public Health and Primary Health Care. (2006). Chronic non-communicable diseases risk factors survey. Available at: <http://www.fineprints.com>
22. Dorko E.; Baranova Z.; Jenca A.; Kizek P.; Pilipcine E. and Tkacikona L. (2005). Diabetes mellitus and candidiasis. Folia. Microbiol. 50: 255-261.
23. Bahunuthula RK.; Thappa DM.; Kumari R.; Singh R.; Munisamy M. and Parijia SC. (2015). Evaluation role of candida in patients with chronic paronychia. Indian. J. Dermatol. Venerol. Lepol. 81: 485-490.
24. Chadeganipour M.; Nilipour S. and Ahmadi G. (2010). Study of onychomycosis in Isfahan Iran. Mycoses. 53:153-157.

Antibiotics susceptibility pattern to *Salmonella enteric serotype Typhi* in Iraqi hospital , 2013

Zuhair I. Jassim, Ali H. Alwardi and Raghad A. Mohammed

CPHL- Enteric Unit/ National Center for Salmonella / Public Health Directorate / Ministry of Health – Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: zuhair.ibraheem@yahoo.com

ABSTRACT

Enteric fever is countered as a public health problems. The treatment with fluoroquinolone, 3rd generation Cephalosporine and Azithromycin, are now increasingly resistant.

The preset study aimed to investigate the antibiotic susceptibility pattern for *S. Typhi* which has been isolated from different Iraqi hospitals in year 2013.

One hundred (100) strains of *S. Typhi* were tested from different Iraqi hospitals to (12) different types of antibiotics according to EUCAST- 2013.

The percentages of resistant to Ampicillin, Chloramphenicol and Trimethoprim- Sulfamethoxazol were (74-77%), while for Ciprofloxacin, Cefotaxime and azithromycin 77%, 14% and 17% respectively.

All strains showed full susceptibility (100%) to meropenem, tigecyclin and tetracycline.

The strains of *Salmonella typhi* which were studied in CPHL ,2013 had shown increasingly resistant to all antibiotics which were used for treatment (1st and 2nd line treatment due to acquire of resistance genes).

This study concludes, that is an increasing resistant trend for *Salmonella typhi* to Ciprofloxacin and 3rd cephalosporin. In some reports carbapenem (Imipenem and Meropenem) are potential third lines for multi-drug resistant isolate.

Keywords: EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing, CPHL: Central Public Health Lab – Iraq – Baghdad, CLSI: Clinical and Laboratory Standard institute

الملخص باللغة العربية

تعتبر الحمى التيفية من أهم المشاكل الصحية التي تواجه القطاع الصحي وذلك بازدياد المقاومة للمضادات للبكتيريا المسببة للمرض مثل مشتقات الفلوروكوينولون والجيل الثالث للسيفالوسبورين وايزثرومايسين.

سعت هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على الحساسية والمقاومة للبكتيريا "سالمونيلا تايبي" المعزولة من المستشفيات العراقية خلال عام 2013. وقد أظهرت النتائج بأن نسبة المقاومة للبنسلين والكلورامفينيكول ومزيج نراي مثيريم والسلفاميثيازول بلغت بين 74-77 % ، في حين بلغت نسبة المقاومة للسيفوفلوكساسين وسيفوتاكسم وايزثرومايسين 17 ، 14 ، 77 % على التوالي. من ناحية أخرى، أظهرت العزلات حساسية وصلت نسبتها إلى 100 % لكل من ميروبينم وتاجيساكيلين والتتراساكيلين.

استنتجت هذه الدراسة بأن المقاومة للبكتيريا المسببة للتيفويد في ازدياد مضطرد للسيفوفلوكساسين والجيل الثالث للسيفالوسبورين.

INTRODUCTION

Enteric fever is countered as a major public health problem especially in developing countries. Chloramphenicol has been the treatment of choice for typhoid fever for (40) years, but widespread emergence of multi drug resistance of *S. Typhi*, which resistant to 1st line of drug (resistance to Ampicillin, Chloramphenicol and Trimethoprim-Sulfamethoxazole) had necessitated the search for other therapeutic options (1).

The 2nd lines of treatment were fluoro-quinolone and 3rd generation Cephalosporins such as Ceftriaxone, Cefixime and Cefotaxime are now increasingly being used the treatment typhoid fever. With the developing of resistance to fluoro-quinolone and 3rd generation cephalosporien, are now increasingly being used in the treatment of typhoid fevers such as India, Pakistan, Middle East and Africa (2).

Salmonella resistance to cephalosporine is largely due to production of enzymes by bacteria called Extended- spectrum -lactamase [ESBL].

Sal. typhi was found to produce a wide variety of ESBL types including TEM, SHV and CTX-M enzymes.

The CTX-M-15 resistance gene was found in Kuwait and United Arab Emirates, and had the problem for these salmonella strains to pose for treatment (1).

MATERIALS AND METHODS

One hundred (100) isolates of *Salmonella typhi* were submitted to Central Public Health Lab (CPHL) in Bagdad from different Iraqi hospitals.

The sources of isolated were from blood, stool and other body sites.

The identification of *Salmonella typhi* was carried and confirmed by using (API 20E) system Biomerieux, and antisera for salmonella poly and mono (Bio-Rad).

The strains were classified as Susceptible, intermediate or resistant according to (EUCAST) version 3.0 April 2013- with standard strain were done with *Escherichia coli* ATCC 25922.

The panel of antibiotics tested included Ampicillin - 10µg; Ampicillin - Clavulanic 20+10 µg; Chloramphenicol 30µg; Trimethoprim-Sulfamethoxazole {1.25-23.75} µg; Ciprofloxacin 5µg; Nalidixic acid 30µg; Cefotaxim 30 µg; meropenem 10 µg; Imipenem 10µg; Tigecycline 15µg; Azithromycin 15µg and Tetracycline 30µg.

At present, no clinical Azithromycin breakpoint has been defined for Enterobacteriaceae; included Salmonella by either (CLSI) or EUCAST (3). The MIC (minimal inhibitory concentration) of azithromycin concentration reported in the literature is in the range of 4-32 mg/ml, and most strains the MIC are 4 to 8 mg/ml. We consider strains was susceptible when zone diameter of inhibition by disk containing 15mg more 21mm, and equal to MIC=16mg/l.

RESULTS

Typhoid fever is a systemic infection, and the most source isolates were from blood and stool as shown in table (1).

Table (1): Number and sites of isolates of *Salmonella typhi* submitted to CPHL, 2013 from different Iraqi hospitals

No.	Site of infection	No. of isolates	% of isolates
1	Blood	84	84%
2	Stool	10	10%
3	Urine	4	4%
4	bone marrow	1	1%
5	Pus (wound)	1	1%
Total		100	100%

Multi – drug resistant typhoid fever (MDR) is defined as typhoid fever caused by *Salmonella typhi* strains which are resistant to all three first – line recommended drugs for treatment. I.e Chloramphenicol, Ampicillin, Trimethoprim-sulfamethoxazol and ciprofloxacin (4).

According to the results obtained, the percentages of resistance to first line antibiotic were found to be 74 – 77% as shown in the table (2).

According to results in table (2), the resistance to second – line antibiotics like the fluoroquinolone like ciprofloxacin; third- generation cephalosporine like cefotaxime and azithromycin, are often now used for treatment of uncompleted typhoid fever; were found to be 12-77%.

The isolates of Sal. *Typhi* reported susceptible to fluoroquinolone i.e Ciprofloxacin must be sensitive to both Nalidixic acid and ciprofloxacin antibiotics. The CLSI reported special zone for Breakpoints of Ciprofloxacin for *Sal. Typhi*.

The resistance to called potential third line of drugs Imipenem, meropenem and tigecyclin were 0-2%.

Also Tetracycline antibiotic is found rolled back as filled susceptible for *Salmonella typhi* isolated in CPHL-2013.

Table (2): Numbes and percentages of susceptible and resistant for *Salmonella typhi* tested in CPHL – 2013

No.	Antibiotics	Number and percentage of susceptible	Number and percentage of resistance
1	Ampicilin	24 (24%)	76 (76%)
2	Amoxacillin-Clavulanic acid	25 (25%)	75 (75%)
3	Chloramphenicol	26 (26%)	74 (74%)
4	Trimethoprim-sulfamethaxol	23 (23%)	77 (77%)
5	Nalidixic acid	23 (23%)	77 (77%)
6	Ciprofloxacin	23 (23%)	77 (77%)
7	Cefotaxime	88 (88%)	12 (12%)
8	Azithromycin	83 (83%)	17 (17%)
9	Imipenem	98 (98%)	2 (2%)
10	Meropenem	100 (100%)	0 (0%)
11	Tigycycline	100 (100%)	0 (0%)
12	Tetracycline	100 (100%)	0 (0%)

DISCUSSION

Determining the antibiotic sensitivity pattern of *Salmonella typhi* isolates is necessary since it will guide the physicians in making the right choice of drug when treating the patients with typhoid fever. The sensitivity of *Sal. Typhi* had continuously changed, initially chloramphenicol was used. In 1989 outbreak was caused by strain of *Sal. Typhi*, resistant to Chloramphenicol , ampicillin and Trimethoprim-sulfamethaxol i.e.(1st line of treatment MDR *Sal. Typhi*) and were reported in many developing countries, especially Pakistan and India (5).

Before 1970, a few sporadic isolations of Chloramphenicol resistant were reported in Aden, Chile and Kuwait (5).

The MDR *Sal. typhi* strains were also reported from all parts of the world, in Quetta Pakistan for instance 69%, where in Vietnam 89% isolates between 1998 and 2002 (6).

In 1995, 28% of all the isolates of *Sal.typhi* from humans in the USA were resistant to first line of drug.

From the results obtained at the present study, the resistant for Ampicillin, Chloramphenicol and Trimethoprim-sulfamethaxol were 76%,74% and 77% respectively in Iraq.

The second line antibiotics used for treatment *Sal. Typhi* were fluoroquinolone (Ciprofloxacin, gatifloxacin,levofloxacin,Ofloxacin, perfloxacin) third-generation Cephalosporin (Ceftriaxone, Cefotaxime, Cefixime and Cefpodoxime proxetil and azithromycine are used for treatment MDR *Sal. Typhi* , thus, there are increasing resistant percentages trend of *Sal. typhi* to 2nd line of treatment i.e fluoroquinolone, 3rd gneration cephalosporin, which range from (12-77%) of isolates.

In *Salmonella*, resistance to 3rd cephalosporine is largely due to production of enzymes by bacteria called "Extended-Spectrum- lactamase –ESBLs" which can hydrolyze Cephalosporine. A type of ESPLs called (CTX-M), which displays a level of

resistance to Cefotaxime and Ceftriaxone was found in strains *Sal. Typhi* from Kuwait and United Arab Emirates (1).

Resistance to 3rd Cephalosporine also was reported in UK and USA, especially among patients who travelled from developing world south-east.

Also, nosocomial infection caused by ESBLs producing *Sal. Typhi* was reported from Latin America, France, Senegal, Africa, Asia and Europe (7).

The emergence of ESBLs in MDR *Sal.Typhi* represents a new challenge and has become a matter of concern, especially in developing countries.

Fluoroquinolone used in treatment are Ciprofloxacin, Gatifloxacin, Levofloxacin and ofloxacin.

The resistant *Sal. Typhi* to fluoroquinolone was reported in India and UK in 1992 (2, 5, 8).

For strain susceptible to ciprofloxacin, (CLSI) reported a special zone of breakdowns (CLSI-2013) for *Salmonella typhi* and sensitive to Nalidixic acid disc.

Currently, Azithromycin is recommended for the treatment of both Shigellosis and Salmonellosis by the World Health Organization and the American Academy of Pediatrics (3) and its increasingly used for the management of uncomplicated enteric fever.

The MIC of Azithromycin, which was reported in the literature are in the range of 4-32 µg/ml and most strains of the MIC are 4 to 8 µg/ml (1).

At present, no clinical Azithromycin break points were defined for Enterobacteriaceae including *Salmonella* by either CLSI or EUCAST (3).

Azithromycin was given once daily in a dose of 1000 mg on the first day and 500 mg a day for (6) or more days .

At the moment, the emergence of resistant strains to three major secondary drugs like Ciprofloxacin, cefataxime and Azithromycin is posing a major problem.

Tigecycline, glycylcycline, tetracycline analogue and lack cross-resistance with other compounds and are very potent inhibiting strains of *salmonella typhi*.

Tetracycline is an old antibiotic and used for treatment of Typhoid before 1980. however, the strain of *Sal.Typhi* is found now susceptible to both Tetracycline and Tigycyclin.

If we closely look at the results, the only meropenem showed 100% susceptible and Imipenem showed 98% susceptible both are penems classes of antibiotic with broad spectrum activity and are stable to hydrolysis by extended – spectrum –lactamaes producing strain (ESBLs) these antibiotics are alternative to drug – resistant strain of *Sal. Typhi* isolates.

CONCLUSION

This study concludes that there is an increasing resistance for *Salmonella typhi* to 2nd line drugs like Ciprofloxacin and 3rd generation Cephalosporin. The Carbapenems (Imipenem and Meropenem) are potential third line for multi-drug resistant *Salmonella typhi*.

REFERENCES

1. Rotimi VO. and Jamal W. (2008). Emergence of CTX-M-IS type Extended-spectrum – lactamase-producing *Salmonella* spp. in Kuwait and the United Arab Emirates. *J. Med. Microbial.* 57:881-886.
2. Mushtaq MA. (2006). What after Ciprofloxacin ceftriaxone in treatment of *salmonella typhi*. *Pakis. J. Med. Sci.* 22(1): 29-33.
3. Marissjoland K. and Kevin J. (2011). Antimicrobial susceptibility to Azthrowmycin among *salmonella enterica* isolates from the United States. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 25: 3985-398.
4. Zaki SA. and Kavande S. (2011). Multidrug-resistant typhoid fever: a review. *J. Infect. Dev. Ctries.* 5(5):324-337.
5. Rowe B.; Ward LR. and Threlfall EJ. (1997). Multidrug-Resistant *Salmonella typhi*. world wide. *Epid. Clin. Infect. Dis.* 24 (Supp/1):S106-S109.
6. Girgis NI. and Butler T. (1999). Azithromycin versus Ciprofloxacin for treatment of uncomplicated typhoid fever in a randomized trial in Egypt that included patients with multidrug resistance. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1441-1444.
7. Sule WF. and Adige AA. (2012). Antimicrobial resistance of clinical isolates of *Salmonella typhi* in Anyigba, Kogistate, Nigeria. *Glob. Adv. Res. J. Microbial.* 1(4): 057-061.
8. Talpur AA. (2012). Sensitivity pattern of *Salmonella typhi* in patients with typhoid small bowel perforations. *Med. Chann.* 19(2): 93-96.

Epidemiological study of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis from Iraqi patients

Shatha Th. Ahmed (1), Ahmed A. Mankhi (2), Ruqaya M. Ali (3) and Batool A. Shihab (4)

(1) Dept. of Biology / College of Sciences for Women / University of. Baghdad (2) Chest and Respiratory Disease Center / Ministry of Health / Baghdad (3) Dept. of Veterinary / Ministry of Agriculture / Baghdad (4) Dept. of Biology / College of Sciences for Women / University of. Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: shatha_thanoon@yahoo.com

ABSTRACT

The study included 2328 samples of patients who attended to Specialized Chest and Respiratory Disease Center/ National Reference Laboratory for Tuberculosis (NRL) in Baghdad in the period from (February 2015 to February 2016). These samples included (1806) of pulmonary TB patients and (522) Extra-pulmonary samples. Methods included direct examination by Zeihl-Nelsen stain, then cultures were examined traditionally and been followed by phenotypic-based identification methods.

Out of a total sample 2328 of different specimens, 351(15.08%) were positive by direct examination (smear microscopy) and 433(18.6%) specimens were able to grow on solid media, and it was found that cultures had detected 82 negative specimens by smear microscopy. Results showed that males were more affected significantly 1356 (58.25%) than females 972 (41.75%), and the higher percentage of positive culture was in Baghdad (12.07%) than other governorates (6.53 %).

The most sites of specimens samples were sputum 1462 (62.8%) with high significant difference than other samples 866 (37.2 %) and the total pulmonary TB was 1806 (77.58%) than total extra pulmonary TB 522 (22.42%). The ages of patients were ranged from <1year to > 60 years. Age range of 30-39 showed the highest percentage of *M. tuberculosis* infection (28.47%), while the lowest recorded age group was observed in (0-9) years with percentage (5.36%). More incidence was a previously treated Pulmonary Tuberculosis patients (old case) (25.44%) with highly significant than new patients (new cases) (10.19%), but the higher percentage of positive culture was in multidrug resistant (MDR) (32.51%).

Keywords: tuberculosis , epidemiology , MDR

الملخص باللغة العربية

تضمنت الدراسة 2328 عينة جمعت من المرضى المراجعين للمختبر المرجعي التابع لمركز الأمراض الصدرية والتنفسية التخصصي في بغداد للفترة من شهر شباط 2015 إلى شهر شباط 2016. شملت العينات (1806) مرضى التدرن الرئوي و(522) مرضى التدرن خارج الرئة، واستخدمت طرائق الفحص المجهرى المباشر للمسحات المصبوغة بصبغة زيل-نيلسون، ثم الزرع على الأوساط الزرع الخاصة متبوعاً بطرائق التشخيص المظهرية المعتمدة.

سجلت نتائج الدراسة أنه من مجموع 2328 عينة كانت 351 (15.08%) عينة إيجابية للفحص المباشر (الفحص المجهرى) و 433 (18.6%) عينة لها قابلية النمو على الوسط الصلب، كما كشفت طريقة الزرع المختبري عن 82 عينة سلبية للفحص المجهرى، وأن الإصابة عند الذكور 1356 (58.25%) كانت أعلى من الإناث 972 (41.75%). وسجلت محافظة بغداد أعلى نسبة للإصابة (12.07%) مقارنة بباقي المحافظات (6.53%).

أوضحت النتائج أن معظم الإصابات كانت من عينات القشع 1462 (62.8%) مع وجود فارق معنوي كبير مع باقي العينات الأخرى 866 (37.2%)، وأن مرضى التدرن الرئوي 1806 (77.58%)، مقارنة بمرضى التدرن خارج الرئة 522 (22.42%). شملت الدراسة أعمار المرضى من عمر أقل من سنة واحدة إلى أكثر من 60 سنة، حيث أظهرت الفئة العمرية من (30-39 سنة) أعلى نسبة للإصابة بالتدرن (28.47%)، في حين سجلت الفئة العمرية من (0-9 سنوات) أدنى نسبة للإصابة (5.36%). ولقد كانت معظم الحالات لمرضى متابعين للعلاج (حالات قديمة) 25.44% بفارق معنوي كبير مع المراجعين لأول مرة (حالات حديثة) 10.19%، لكن النسبة الأعلى للحالات الإيجابية كانت من النوع المقاوم للأدوية 32.51%.

INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) stands as a major global health problem, ranking as the second highest cause of death from an infectious disease globally, after the human immunodeficiency virus (HIV). Iraq had been identified as middle-TB burden country in the world and ranks 8th of 22 EMR countries according to estimated incidence of all forms of TB. Iraq contributed 3% of total cases in the EMR and considered among the eight high TB burdened countries in the region (1).

According to a recent report of the Ministry of health (MOH) in Iraq, the incidence rate 43/100.000 with nearly 8268 new and relapse cases reported for 2014 (2). The case detection rate is 54% for all forms of TB cases, mainly due to the poor security situation in some governorates, which report fewer cases as many cases are displaced or lost to follow up (1). The conventional techniques for TB diagnosing worldwide, can be done by symptoms, chest radiography, and sputum smear microscopy. Light microscopy with ZiehlNeelsen(ZN) stain is easier, cheaper and used in the diagnosis of TB in many resources poor setting, while culture is considered the gold- standard for diagnosis, the sensitivity of culture is far higher than microscopy (3,4).

The aim of this study was to determine epidemiology of *M. tuberculosis* isolates in Baghdad, as well as in other Iraqi governorates, to assess their transmission dynamics.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

The study was implemented at specialized center for chest and respiratory diseases in National Reference Laboratory for Tuberculosis (NRL) in Baghdad. During the period from (1/2/2015...1/2/2016). The samples were selected from 2328 TB patients that attended to the center which were , including pulmonary and extra pulmonary TB diseases. Samples were collected from two gender their ages were between (few months-95 year).

Samples were collected from new cases (new patients), previously treated Pulmonary Tuberculosis patients (retreated patients). Baseline demographic data (including: name, age, gender, residence address, evidence of previous anti-TB treatment was compiled from patient's medical records. sputum was collected from patient according to (National Tuberculosis Program in Iraq) three samples were collected from each patient. First one was taken from patient when he just reached the center; second sample collected at early morning before breakfast; and third one was collected at any other time on the day. The samples were divided into two group: pulmonary TB (1806)samples and (522) samples extra – pulmonary TB. The pulmonary TB patients (sputum Bronchial

wash and Bronchoalveolar lavage) On the other hand , the extra – pulmonary TB samples were taken included (urine, pleural fluid, fine needle aspiration, gastric fluid, ascitic fluid, CSF etc.).

Processing of samples

The specimens were digested and decontaminated by using Sodium hydroxide procedure (Petroff decontamination procedure). An equal volumes of sputum were mixed with 4% sodium hydroxide (previously sterilized by autoclaving) in sterile centrifuge tube. The mixture was allowed to stand at room temperature for 15 minutes with occasional gentle shaking, and the mixture centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. The resultant supernatant was discarded and the sediment neutralized by distilled water or by drop with a 2 mol / 1N HCl solution containing 2% of phenol red combined with shaking until the color changes from red to yellow . And the sediment used for preparing the concentrated smear method and inoculating culture media (5).

Smears stained with Acid Fast Bacilli staining

Two smears were prepared from all decontaminated samples and stained with Ziehl Neelsen (ZN). All smears were examined with 100x oil immersion objectives using light microscopy.

Mycobacterial culture

Lowenstein Jensen (LJ) medium was prepared by method described by (5) and Löwenstein-Jensen (LJ) medium with sodium pyruvate was prepared in the same manner but with 12 g of sodium pyruvate instead of the glycerol. Decontaminated specimens was cultured on (LJ)media, (2-4) drops of the centrifuged sediment distributed over the surface of 3 slopes of (LJ) medium by plastic Pasteur pipettes used for each slope, and an additional one slope containing sodium pyruvate. All cultures were incubated at 37°C for 8 weeks , cultures were examined 48 hrs. after incubation; thereafter, cultures were examined weekly. The growth was observed or discarded as a negative after 8 weeks.

All The positive growth of *M. tuberculosis* thus obtained was identified by their rate of growth, colonial morphology, Ziehl Neelsen staining and biochemical tests. There were several tests done for identification and typing of TB bacilli was prepared such as: Growth on pyruvate (stone brink) media, Growth on P.N.B (P- nitro benzoic acid) media, growth on T.C.H (thiophene-2- carboxyl acid Hydrazide) media, Niacin test, Nitrate reduction test and catalase test (5).

RESULTS

All samples (2328) were examined for acid fast stain. 351(15.08 %) samples were positive for acid fast stain but after culturing on LJ medium

433(18.6%) samples showed cultural, microscopical features and biochemical characterization to be identified as *M. tuberculosis*. (table 1). It was found that cultures detected 82 negative specimens by smear microscopy. This result means that the cultivation rate of *M. tuberculosis* from clinical specimens was higher than direct examination, while negative of specimens were (81.4%, 84.92%) respectively with significant different, and the male was more affected significantly 271 (62.6%) than female 162 (37.4%) from 433 positive specimens in culture.

Table (1): Distribution of samples according to sex

Sex	Total	Direct examination		Culture examination	
		+Ve	-Ve	+Ve	-Ve
Male	1356 (58.25%)	224 (63.82%)	1132	271 (62.6%)	1085
Female	972 (41.75%)	127 (36.18%)	845	162 (37.4%)	810
Total	2328	351	1977	433	1895
%		15.08%	84.92%	18.6%	81.4%

Chi-square- ² = 9.39*, P-value= 0.0245

M. tuberculosis cells appeared as a single cells or aggregated. The colonies of *M. tuberculosis* on LJ media were circular, rough, appears as brown, granular colonies. Table (2) summarizes the biochemical characterization results.

Table (2): Biochemical characterizations of *M. tuberculosis*

Biochemical test					
Niacin Production	Nitrate reduction	Catalase test	TCH	PNB	Pyruvate medium
+	+	—	resistant	Sensitive	—

Results shown in table (3) revealed that the higher percentage of positive culture was in Baghdad than other governorate. Samples from Baghdad were 1596 out of 2328 (68.56%). Only 281(12.07%) specimens were positive by cultivation on LJ media, other governorates represented 732 out of 2866 (31.44%) with positive specimens 152 (6.53 %). Results shown in table (4) reflected that sputum were in 1462 (62.8%), while the other samples 866 (37.2 %) and the total pulmonary TB were 1806 (77.58%) of total extra pulmonary TB 522 (22.42%).

In table (5), the higher appearance of *M. tuberculosis* (28.47 %) was in the age group (30-39) years with highly significant difference between age groups ($P < 0.001$). Finally, More incidence was found among retreated type of patients (25.44%) with highly significant than new type (10.19%), but the higher percentage of positive culture was in MDR (32.51%) as shown in table (6).

Table (3): Distribution of samples according to Governorates

Governorate	Total	Results		% of positive culture
		+ve	- ve	
Baghdad	1596 (68.56%)	281	1315	12.07
Al-Basra	23 (0.99%)	10	13	0.42
Ninawa	6 (0.26%)	1	5	0.04
Kerbala	53 (2.28%)	14	39	0.60
Wasit	95 (4.08%)	18	77	0.77
DhiQar	103 (4.42%)	22	81	0.95
Diyala	108 (4.64%)	19	89	0.82
Salah Al-Din	54 (2.32%)	6	48	0.26
Babil	83 (3.56%)	23	60	0.99
Al-Qadisiyya	33 (1.42%)	6	27	0.26
Muthanna	21 (0.9%)	6	15	0.26
Al-Anbar	8 (0.34%)	2	6	0.09
Maysan	29 (1.25%)	6	23	0.26
An-Najaf	43 (1.85%)	12	31	0.52
Kirkuk	17 (0.73%)	1	16	0.04
Sulaymaniyah	7 (0.3%)	1	6	0.04
Dohuk	21 (0.9%)	0	21	0.00
Arbil	28 (1.2%)	5	23	0.21
Total	2328	433	1895	18.6%

Chi-square- ² 30.598* p 0.22*

Table (4): Distribution of samples according to Site of infection

Site of infection	Total	Results		% of positive culture
		+ve	- ve	
Sputum	1462 (62.80%)	379	1083	16.28
Bronchial Wash	286 (12.29%)	18	268	0.77
Bronchoalveolar Lavage	58 (2.49%)	3	55	0.13
Total PTB	1806 (77.58%)	400	1406	17.18
Pleural fluid	268 (11.51%)	15	253	0.64
Gastric fluid	35 (1.50%)	2	33	0.09
CSF	17 (0.73%)	0	17	0
Ascitic fluid	61 (2.62%)	2	59	0.09
Abscess	19 (0.82%)	3	16	0.13
Urine	59 (2.53%)	1	58	0.04
Swab/puss	36 (1.55%)	8	28	0.34
Peritoneal fluid	4 (0.17%)	0	4	0
Aspiration fluid	16 (0.69%)	1	15	0.04
pericardial fluid	6 (0.26%)	1	5	0.04
synovial fluid	1(0.04%)	0	1	0
Total EPTB	522 (22.42%)	33	489	1.42
CSF	2328(100%)	433	1895	18.6
Total	1462 (62.80%)	379	1083	16.28

Chi-square- ² = 227.368**, P-value= 0.00

Table (5): Distribution of samples according to age groups

Age group (years)	Total	Result		Percentage of positive culture (%) from total positive result
		+Ve	-Ve	
0 -9	112(4.81%)	6	106	5.36
10- 19	152(6.53%)	28	124	18.42
20- 29	352(15.12%)	71	281	20.17
30- 39	418(17.96%)	119	299	28.47
40- 49	390(16.75%)	85	305	21.79
50- 59	377(16.19%)	67	310	17.77
> 60	527(22.64%)	57	470	10.82
Total	2328	433	1895	18.6

Chi-square- $\chi^2 = 64.543^{**}$, $P\text{-value} = 0.00$

Table (6): Distribution of samples according to type of patients

Type of patients	Total	Result		Percentage of positive culture (%)from type of patient
		+Ve	-Ve	
Retreated	397 (17.05%)	101	296	25.44
New	1325 (56.92%)	135	1190	10.19
MDR	606 (26.03%)	197	409	32.51
Total	2328	433	1895	18.6 %

Chi-square- $\chi^2 = 151.614^{**}$, $P\text{-value} = 0.00$

DISCUSSION

The results showed that cultivation rate (18.6 %) of *M. tuberculosis complex* from clinical specimens was higher than direct examination (15.08%), because culture methods can detect cases with low mycobacterial loads. Culture techniques have been estimated to detect as many as 10 –100 of viable organism per ml of specimen in comparison with 5000-10.000 bacilli/ml that are required for detection by smear as mentioned by (6). The smear microscopy plays an important role in the early diagnosis of mycobacterial infections which is rapid, inexpensive and very useful method to identify highly contagious patients, its usefulness depends largely on the quality of the sputum specimen and the performance quality of the laboratory (7). However, sensitivity of sputum Ziehl–Neelsen (Z-N) staining does not exceed 60% to 70% as compared with sputum culture. cultivation *M. tuberculosis* consider as a gold standard for TB diagnosis, it can performance on a variety of specimens' pulmonary and extra pulmonary specimens. It is much more sensitive than microscopy (8).

Regarding the extra-pulmonary TB (EPTB) specimens, (9) had mentioned that the pulmonary tuberculosis infected lungs mainly, while the extra-pulmonary tuberculosis can present as pleural effusions, tuberculous lymphadenitis, tuberculous meningitis, abdominal tuberculosis and tuberculosis of bones and joints. Although Initial diagnosis is dependent on the smear microscopy for acid fast bacilli (AFB) by Ziehl Neelsen (ZN) staining and

culture, there are various reports regarding the sensitivity of Z-N smear for extra-pulmonary specimen ranging from as low as 0% to as high as 75% as reported by (10), these findings were clear in this study, as a total of 33 extra-pulmonary specimens which were diagnosed with conventional staining and solid culture.

The majority of TB cases were more from Baghdad city with percentage (68.56%) than other governorates at percentage (31.44%) as shown in Table 3, so the high percentage of TB disease were from Baghdad may be related to the high density of population associated with crowded conditions, and because of the availability of more diagnostic methods facilities than other governorates that enable to record more TB cases among suspected TB patients, with difficulties for patients to reach Baghdad.

Differences in tuberculosis notification rates between men and women may reflects the nature of work that, the males work in various fields, non sanitary, and crowded area especially in cases of poor ones. Thus, males are more exposed to infection. This result agreed with Shaker and Saleh who found that males were more than females in TB cases (63.2% males and 36.8% females) (11), and in 2014 according to WHO, there were an estimated 5.4 million incident cases of TB among men, 3.2 million among women and 1.0 million among children (1).

The most site of specimens are shown in Table 4 was the pulmonary TB (PTB) that higher percentage of positive culture than total extra pulmonary TB (EPTB). In this study the lower reduction in EPTB

compared with incidence of PTB, such results are expected and attributed to that TB is a lung disease and sputum represented the best specimen for it. Other study showed high percentage compared with this result such as the result of Al-Otaibi and Hazmi in Saudi Arabia, who reported percentage of EPTB was 57.5% and PTB was 42.5% (12), but another study found the percentage of EPTB and PTB in Turkey were 25.9 % and 74.1% respectively (13).

The current result of infection age group was shown in table 5 revealed that low percentage (7.39%) of tuberculosis cases among age less than 19 years from 433 positive culture may be attributed to BCG vaccine given at young ages while the high percentage of infection above 19 year returned to many factors such as smoking and other immune depression factors like diseases, this was in accordance with study in Baghdad by Al-Rubayai which found the highest percentage of tuberculosis were at the age group above 15 years and the mean age was 35.8 years (14), and in Iraq in 2014, among 8268 cases 585 (7%) cases aged under 15 years (1), and this study was in accordance with study in Basra which found the higher appearance of *M. tuberculosis* (24.2 %) was in the age group 30-39 years (15).

In table (6), the higher percentage of positive culture was in MDR (32.51%), the major factors behind the high prevalence rate of MDR-TB include poor access to laboratory diagnosis and effective treatment. Therefore, the undiagnosed cases continue to spread the MDR-TB. An empiric treatment of patients infected with TB or MDR-TB strain can also result in the spread of MDR-TB. The approach of empiric treatment without the drug susceptibility testing (DST) in many developing countries is believed to aggravate the problem of MDR-TB in patients already infected with strains resistant to one or more drugs (1). Therefore, a rapid and reliable diagnostic tool with simple experimental protocol can significantly help in decreasing the prevalence rate of MDR-TB strain.

CONCLUSION

Results obtained by this study suggest that cultivation rate is more sensitive than direct method. The gender and age may be risk factors for disease, males with high risk than female with MDR-TB infection.

REFERENCES

1. World Health organization (WHO). (2015). Global Tuberculosis Report. 20th ed.
2. Ministry of Health of Iraq (MOH). (2013). Notional TB program TB. Epidemiological situation in Iraq. 5th National Conference of tuberculosis. Al-Basra.
3. Singla R.; Sarin R.; Khalid UK.; Mathuria K.; Singla N. *et. al.* (2009). Seven-year DOTS-Plus pilot experience in India: results, constraints and issues. *Int. J.Tuber. Lung. Dis.* 13: 976–981.
4. Central TB Division. (2012). Guidelines on programmatic management of drug resistant TB (PMDT). Directorate General of Health Services, Ministry of Health and Family Welfare, Government of India.
5. Mankhi AA. (2010). Manual of laboratory work of tuberculosis program in Iraq. Published by Iraqi Anti TB. and Chest Diseases Society in collaboration with WHO. Baghdad, Iraq. Pp.: 35-60.
6. Della LP. (2004). Mycobacteriology and mycobacterial susceptibility tests. In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. Henry D. Isenberg Editor in Chief, ASM Press.
7. Steingart K.; Vivienne N.; Henry M., Hopewell P.; Ramsay A.; Cunningham J.; Urbanczik R.; Perkins M.; Aziz M. and Pai M. (2006). Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 6: 664-674.
8. Palomino J.(2005). Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *Eur. Respir. J.* 26: 339-350.
9. Lienhardt C.; Rowley J. and Manneha K. (2001). Factors affecting time delay to treatment in a tuberculosis program in sub-Saharan African country: the experience of the Gambia. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 5:233-239.
10. Kamboj SS.; Goel MM. and Tandon P. (1994). Correlation study of histopathology and bacteriology in patients of tubercular lymphadenitis. *Indian. J. Chest. Dis. Allied Sci.* 36:187-191.
11. Shaker HH. and Saleh DS. (2013). A study on diagnosis and multidrug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* using different methods. Master thesis. College of Science, University of Baghdad.
12. Al-Otaibi F. and El-Hazmi M. (2010). Extra-pulmonary tuberculosis in Saudi Arabia. *Indian. J. Pathol. Microbiol.* 53:227-231.
13. Gunal S.; Zhenhua Y.; Mansi A.; Mehmet K.; Zeynep K. and Riza A. (2011). Demographic and microbial characteristics of extrapulmonary tuberculosis cases diagnosed in Malatya, Turkey: 2001-2007. *BMC Pub. Health.* 11:154 -161.
14. Al- Rubayai DS. (2011). Molecular detection of specific gene mutations associated with isoniazid or rifampicin resistance among category II pulmonary tuberculosis using DNA Microarray. Ph.D. Thesis. College of Medicine, Al-Nahrain University.
15. Al-Mussawi AA. (2016). Detection of rifampin resistance tuberculosis by genexpert MTB/RIF in Basra governorate/ south of Iraq. *J. Bio. Innov.* 5(2):237-244.

Isolation of *E.coli* O157:H7 from bovine milk sample in Baghdad province

Ezdiyar M. Al- Rubaie

Dept. of Zoonotic Disease/ Collage of Veterinary Medicine/ University of Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: ezn_2006@yahoo.com

ABSTRACT

The present study aimed to isolate *E.coli* and *E.coli* O157:H7 from bovine milk samples. One hundred samples of bovine milk were collected from three areas of Baghdad province. All milk samples were subjected to culture on specific media {Sorbitol MacConkey agar plus cefixime potassium tellurite (SMA-CT)} and Chrom agar then biochemical and serological tests using latex kit were done.

The results demonstrate that 47% (47 out of 100 milk samples) and 22% (22 out of 100 milk samples) were positive to *E.coli* and *E.coli* O157:H7 respectively from these three areas in Baghdad. In west Rathwania 23 and 16 out of 50 milk samples were positive to *E.coli* and *E.coli* O157:H7 respectively. In east Rathwania 17 and 5 out of 34 milk samples were positive to *E.coli* and *E.coli* O157:H7 respectively. In Al-Huria city 7 and 1 out of 16 milk samples were positive to *E.coli* and *E.coli* O157:H7 respectively. The results of sensitivity test showed that the *E.coli* O157:H7 were resistant 100% to the antibiotic, Docxycycline 30 (Do 30), Trimethoprim 5 (TMP5), Ceftriaxone 30 (CRO30).

Keywords: *E.coli* O157:H7, milk samples

الملخص باللغة العربية

هدفت هذه الدراسة إلى عزل جرثومة *E. Coli* و *E. Coli* O157:H7 من حليب الأبقار. جمعت مائة عينة من حليب الأبقار من ثلاث مناطق في محافظة بغداد. زرعت جميع عينات الحليب على وسط خاص SMA-CT ، ووسط الصبغة. ثم أجري عليها الاختبارات الكيموحيوية والاختبارات المصلية باستخدام عدة خاصة.

أظهرت النتائج أن 47% من عينات حليب الأبقار و 22% منها كانت موجبة لجراثيم *E. Coli* و *E. Coli* O157:H7 على التوالي. في منطقة الرضوانية الغربية كانت 23 و 16 عينة من أصل 50 عينة حليب موجبة لجرثومة *E. Coli* و *E. Coli* O157:H7 على التوالي. وفي منطقة الرضوانية الشرقية، 17 و 5 عينة من أصل 34 عينة حليب كانت موجبة لجرثومة *E. Coli* و *E. Coli* O157:H7 على التوالي. وفي منطقة الحرية، 7 و 1 عينة من أصل 16 عينة حليب كانت موجبة لجرثومة *E. Coli* و *E. Coli* O157:H7 على التوالي. كما أظهرت نتائج فحص الحساسية أن جرثومة *E. Coli* O157:H7 كانت مقاومة بنسبة 100% للمضادات الحيوية.

INTRODUCTION

Milk is considered a serious threat foodstuff and plays a significant medium for bacterial growth (1). It can be the major resource of food borne pathogens, and there have been many outbreaks due to food-poisoning related with direct consumption of untreated milk. The existence of pathogenic microbes in milk increased because of fecal contamination during the milking. Contaminated milking parlor, equipment and floors can facilitate the spread of these pathogens to the udders. Good hygiene, including the removal of fecal material from udders and ensuring a clean environment, is therefore important (2).

Bovine and other ruminants carry *E.coli* O157:H7 without clinical symptoms and these animals shed this pathogen with feces for long time lead to contamination of food (3). Kedhier (2006) found that 90 % of fecal samples of healthy cattle were positive to *E.coli* O157:H7 (4). Ruminants, especially cattle are the major reservoir of *Shiga Toxin E. coli* (STEC), and human infectivity is often related to eating of contaminated beef or closed contact with the animals (5).

STEC strains are extremely significant harmful to human with low infectious dose, through using of contaminated water or food leading to food-borne disease. Raw milk is used by wide range of people especially who work at farms and consider that the milk is safe and have useful health benefits which are lost by pasteurization.

The existence of food borne microorganisms in milk may attributed to close contact with contaminated sources in the dairy cattle farm and shedding of the pathogens from the udder of an infected animal (6). *E. coli* O157:H7 cause severe abdominal pain, hemorrhagic colitis, diarrhea, thrombotic thrombocytopenic, hemolytic-uremic syndrome, and purpura. The pathogenic factors of enterohemorrhagic *E. coli* such as Shiga toxins, the chromosomal LEE locus that carries factors (*eaeA*, *tir*) involved in the attaching and effacing process, and a big plasmid carry the hemolysin genes (7).

Infections can also be acquired by close contact with animals and by human-to-human spread (8). Studies show that there is a considerable increase in the resistance of *E. coli* O157:H7 to antibiotics (9). The effectiveness of antibiotics therapy for STEC infections is unresolved because antibiotics may destroy bacteria cell walls, in this manner releasing Shiga toxins (10). However, many studies propose that some antibiotics, if treated at the beginning of the course of infection, may prevent disease development to hemorrhagic uremic syndrome (HUS) (11). Because STEC infections are not aggressively (12) they are not recommended for treating STEC O157:H7 infections.

MATERIALS AND METHODS

Collection of fresh milk samples

The samples of milk were collected from three areas in Baghdad province. Ten (10) ml of fresh milk samples of 100 cows were collected for the microbiological analysis. Milk was stripped by hand directly into sterile test tubes after cleaning the udder with warm disinfectant solution and transporting as soon as possible to the laboratory in a cooled container (13).

Bacterial isolation

Each sample was cultured on MacConky, Eosin Methylene blue, Sorbitol MacConkey agar plus cefixime potassium tellurite (SMA-CT) and Chrome agar. *E. coli* O157:H7 was incubated at 37°C for 24 hrs. aerobically. Gram stain was performed by taking a single colony from a growth. Confirmation by biochemical tests (IMVIC, Urea test) was done to confirm the diagnosis of isolated bacteria (14).

Serological test

Latex Agglutination Test was done for isolated *E.coli* O157:H7 by latex agglutination test kit, (Oxoid).

RESULTS AND DISCUSSION

Culturing on MacConkey and eosin methylene blue

Results of culturing samples exhibit different morphological characteristic colonies of *E.coli*. The colonies appear pink on MacConkey agar and blue metallic sheen appear on eosin methylene blue. The gram stain was done on isolated bacteria and it appears as gram negative bacteria (figure 1).

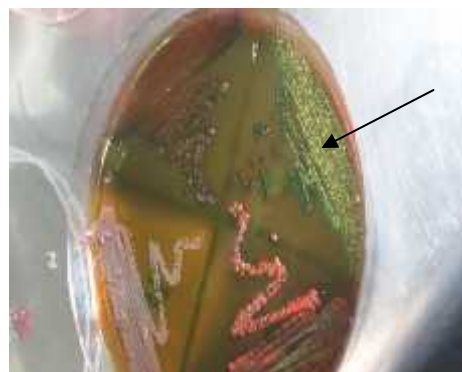


Figure (1): Colonies of *E.coli* on EMB showed metallic sheen dye

Culturing on specific media for *E. coli* O157:H7 - Sorbitol MacConky agar plus cefixime potassium tellurite (SMA-CT)

The suspected colonies of *E. coli* O157:H7 show tiny, circular and colorless with smoky center on SMA-CT (figure 2). *E. coli* O157:H7 cannot ferment Sorbitol that is differs from most other strains of *E. coli* in being incapable to ferment Sorbitol. The isolation of *E. coli* O157:H7 on SMA-CT was similar to what mentioned by (15), who revealed that Sorbitol MacConkey agar was an alternative of conventional MacConkey agar used in the isolation of *E. coli* O157:H7.



Figure (2): Colorless colonies with smoky center of *E. coli* O157:H7 on SMA-CT

Culturing on Chrome agar *E. coli* O157: H7

E. coli O157:H7 appeared on chrome agar as mauve color colonies while another strains of *E. coli* appear blue color colonies when cultured on the same agar and incubated for 24 hrs. at 37 °C (figure 3). This result confirms that the chrome media is very essential to diagnose *E. coli* O157:H7. These results agreed with (16), who revealed that *E. coli* O157:H7 appear mauve color due to utilize one of chromogenic substrates. The growth of mauve color colonies on Chrome agar is considered as presumptive identification for *E. coli* O157:H7. Non *E. coli* O157:H7 bacteria may use other chromogenic substrates resulting in blue to blue green colored colonies whereas none of the chromogenic substrates are utilized, colonies may appear as a natural color (17). Studies conducted all over the world had shown that chrome agar is an effective supplemental medium for the diagnosis of probable STEC strains and indicated that these technique have higher specifically, exclusivity and performance in compare with other technique (18). Philips *et. al.* (2005) showed that the improved diagnostic concert and competence of Chrome agar assist to diagnose *E. coli* O157:H7 cases and outbreaks (19). Tavakoli *et. al.* (2008) stated that chromogenic media have more benefit and can be a suitable choice for conventional and routine diagnostic procedure (20).

The present study showed that 47% and 22% of fresh milk samples were positive to *E. coli* and *E. coli* O157:H7 respectively. From 100 milk samples 47 samples were positive to *E. coli* and 22 were positive to *E. coli* O157:H7 from three areas in Baghdad province. In west Rathwania, 23 and 16 out of 50 milk samples were positive to *E. coli* and *E. coli* O157:H7 respectively. In east Rathwania, 17 and 5 out of 34 milk samples were positive to *E. coli* and *E. coli* O157:H7 respectively. In Al-Hurria city 7 and 1 out of 16 milk samples were positive to *E. coli* and *E. coli* O157:H7 respectively (table 1). These results were analyzed by use Chi-square. Chi square value was 4.88 and $P=0.087$ for positive isolates of *E. coli* and Chi-square value was 0.0870, $P=0.04$ for positive isolates to *E. coli* O157:H7. Results revealed that the differences among areas were significant ($P=0.04$).

Presence of *E. coli* and *E. coli* O157:H7 in milk is considered as an indicator to contaminated milk by these bacteria either by unhealthy conditions in milk production or unclean of equipments and milk handlers or fecal contaminate of udder and milk. The result variations in microbiological value of fresh milk in different studies attributed to many factors such as: geographic area, farm size, different sample size and the type of methods of diagnosis (21). Although safe milk is produced from healthy cows and milking process is performed under clean circumstances but bovine feces were spotted about floor of farm and attached to the milking and feeding equipments leading to contamination of feeding equipments and infected feed. The results obtained here are in agreement with those obtained by (22), who isolated *E. coli* from fresh milk samples at 63% in Sudan and they mentioned the way of milk contamination with *E. coli*. Soomro *et. al.* (2002) isolated *E. coli* from milk samples with percentage 75 % in Pakistan (23), while the results of *E. coli* O157:H7 isolation percentage were in agreement with that found by (24) who found that *E. coli* O157:H7 are presented in fresh milk samples of cattle in Baghdad province with percentage 72%. Table (1) shows the positive isolates of *E. coli* and *E. coli* O157: H7

Table (1): Positive isolates of *E. coli* and *E. coli* O157: H7

Areas from Baghdad Province	No. of samples	No. of positive samples of <i>E. coli</i>	No. of positive samples of <i>E. coli</i> O157:H7
West Rathwania	50	23	16
East Rathwania	34	17	5
AL- Hurria city	16	7	1
Total	100	47(47%)	22 (22%)
Chi-square value		0.211	6.28
P		0.89	0.04

Differences among areas were significant ($P=0.04$)

It was found that 86 out of 150 (57.34%) of fresh milk samples were positive to *E.coli* O157:H7 (figures 3 and 4) as results obtained by (25), (12) isolated *E.coli* O157:H7 from fresh milk samples with 8% percentage, while (26) isolated *E.coli* O157:H7 in 6 cattle fresh milk samples out of 40 samples (15%) from Baghdad Province. Lye *et al.* (2013) found *E. coli* O157:H7 in raw cow milk with percentage 8.75% (27). Dairy cattle are important reservoirs of STEC. This microorganism contaminates milk during close contact with dairy cattle and its environment (28). Oksuz *et. al.* (29) explained that the most outbreaks due to *E. coli* O157:H7 were related with fodder cattle origin especially those contaminated with feces of cattle. It was confirmed by (30) that *E. coli* O157:H7 are shedded from healthy cattle feces. The results of sensitivity test to antibiotics showed that all isolates of *E.coli* O157:H7 were resistance 100% to Docxycycline 30(Do30), Trimethoprim 5 (TMP5) and Ceftriaxone 30(CRO30).



Figure (3): The mauve colonies of *E.coli* O157: H7 on chrome media



Figure (4): Latex agglutination test 4,5 positive agglutination to *E.coli* O157:H7

Recognition of *E. coli* O157:H7 in fresh milk samples revealed that raw milk is a serious public health concern of less educated people and farm families. They still consume milk without using boiling or pasteurization. Effective and continuous training accompanied with emphasize on the safety and health issues related to raw milk hazards is really needed. To protect public health, more

stringent regulations and strategies are in demand (27).

REFERENCES

1. Chye FY.; Abdullah A. and Ayob MK. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol.* 21: 535-541.
2. O'Loughlin CP. and Upton M E. (2001). Control of VTEC in non-meat products. In *Verocytotoxigenic E. coli*, pp 381-392. DuffyG, GarveyP, McDowellD A, eds. Trumbull, Connecticut, USA: Food & Nutrition Press Inc.
3. Grauke L.; Kudva I.; Yoon J.; Hunt C.; William C. and HovdJe C. (2002). Gastrointestinal tract location of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2269-2277.
4. Kedhier Z. (2006). The occurrence and sources of milk contamination with enterohaemorrhagic *E.coli* O157:H7. Master thesis, Veteriery Medicine College, University of Baghdad. Iraq.
5. Savoye F.; Feng P.; Rozand C.; Bouvier M.; Gleizal A. and Thevenot D. (2011). Comparative evaluation of a phage protein ligand assay with real-time PCR and a reference method for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef and trimmings. *J. Food Protec.* 74: 6-12.
6. Zeinhom MMA. and Abdel-Latef GK. (2014). Public health risk of some milk borne pathogens. Beni-Suef Univ. J. Bas. Appl. Sci. 1: 3-7.
7. Watanabe HJ.; Terajima H.; Izumiya AW. and Tamura K. (1999). Molecular analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolates in Japan and its application to epidemiological investigation. *Pediatr. Int.* 41:202-208.
8. Caprioli A.; Morabito S.; Brugere S. and Oswald E. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichiacoli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet. Res.* 36:289-311.
9. Galland JC.; Hyatt DRS.; Crupper S. and Acheson DW. (2001). Prevalence, antibiotic susceptibility, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1619-1627.
10. Wong CS.; Jelacic S.; Habeeb RL.; Watkins SL. and Tarr PI. (2000). The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N. Engl. J. Med.* 342:1930-1936.
11. Shiomi M.; Togawa M.; Fujita K. and Murata R. (1999). Effect of early oral fluoroquinolones in hemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7. *Pediatr. Int.* 41:228-232.
12. Bassam YK.; Basil AA. and Khulood AK. (2012). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from human and animal sources in Basrah province. *Basrah J. Vet. Res.* 11: 47-55.
13. Vendramin T.; Kich DM.; Molina RD.; de Souza CFV.; Salvatori RU.; Pozzobon A. and Bustamante-filho IC. (2014). Molecular screening

- of bovine raw milk for the presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) on dairy farms. Food. Sci. Technol. 34(3): 236-239.
14. Quinn PJ.; Carter ME.; Markey B. and Carter GR. (2004). Clinical Veterinary microbiology. 6th ed. Mosby and Wolf, London. Pp.:66-85.
15. Doyle MP.(1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. Int. J. Food Microbiol. 12:289-301.
16. Bettelheim KA. (1998). Studies of *E. coli* cultured on rainbow agar O157 with particular reference to enterohaemorrhagic *E.coli*. Microbiol. Immunol. 42: 265–269.
17. Ngwa GA.; Schop R.; Weir S.; León-Velarde; CG. and Odumeru JA. (2013). Detection and enumeration of *E. coli* O157:H7 in water samples by culture and molecular methods. J. Microbiol. Methods. 15:164-172.
18. Tarr PI.; Gordon CA; and Chandler WL. (2005). Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet. 365:1073-1086.
19. Phillips B.; Tyerman K. and Whiteley SM. (2005). Use of antibiotics in suspected haemolytic-uraemic syndrome. Brit. Med. J. 330:409-410.
20. Tavakoli H.; Bayat M.; Kousha A. and Panahi P. (2008). The Application of chromogenic culture media for rapid detection of food and water borne pathogen. Am. Euras. J. Agric. Environ. Sci. 4(6): 693-698.
21. Jayarao BM.; Donaldson SC.; Straley BA. *et. al*. (2006). A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. J. Dairy Sci. 89:2451–2458.
22. Asmahan A A. and Warda SA. (2011). Incidence of *Escherichia coli* in raw cow's milk in Khartoum State. Brit. J. Dairy Sci. 2: 23-26.
23. Soomro AH.; Arain MA.; Khaskheli M. and Bhutto B. (2002). Isolation of *Escherichia Coli* from raw milk and milk products in relation to public health sold under market conditions at Tandojam. Pakist. J. Nutr. 1(3): 151-152.
24. Lejeune JT. and Rajala-Schulyz PJ. (2009). Food safety: unpasteurized milk: a continued public health threat. Clin. Infect. Dis. 48:93-100.
25. Basil AA. (2013). Detection of virulence and adherence gene in *Escherichia Coli* O157:H7 isolated from animal product. Basra. J. Vet. Res. 12:59-66.
26. Wali MK. (2014). The synergistic bactericidal effect of bacteriocin and activated lactoperoxidase system against *E.coli* O157:H7 in milk. Master thesis. College of Veterinary Medicine. University of Baghdad. Iraq.
27. Lye YL.; Afsah-Hejri L.; Chang WS.; Loo YY.; Puspanadan S.; Kuan C H.; Goh SG.; Shahril N.; Rukayadi Y.; Khatib A.; John YHT.; Nishibuchi M.; Nakaguchi Y. and Son R. (2013). Risk of *Escherichia coli* O157:H7 transmission linked to the consumption of raw milk. Int. Food Res. J. 20(2): 1001-1005.
28. Hussein HS. and Sakuma T. (2005). Prevalence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. J. Dairy Sci. 88: 450-465.
29. Oksuz O.; Arici M.; Kurultay S. and Gumus T. (2004). Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. Food Control. 15: 453-456.
30. Mead PS. and Griffin PM. (1998). *Escherichia coli* O157:H7. Lancet. 352: 1207–1212.

Assessment of natural radioactivity level and hazard index in cultivation medium (Peat moss and perlite)

Ramla D. S. Alalawy

Dept. of Physics / Almustansiriyah University / Republic of Iraq

E-mail: rm_alalawy@yahoo.com

ABSTRACT

The background level of radiation in the natural environment surrounds us at all times. Levels of natural occurring radioactivity in Cultivation medium such as peat moss and perlite that widely used within gardeners and horticultural uses to achieve better growth for plants have been investigated using HPGe detector through gamma-ray spectrometry. The activity concentration of radionuclides in the ^{226}Ra , ^{232}Th -series and ^{40}K has been determined in seven samples of peat moss and one of perlite. The activity concentration of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K for Peat moss and perlite samples were ranged from 6.2 ± 2.3 Bq/kg to 54.3 ± 28.4 Bq/g from 2.1 ± 0.3 Bq/kg to 29.2 ± 6.4 Bq/kg and from 99.3 ± 11.6 Bq/kg to 551.2 ± 38.1 respectively. The study also examined some radiation hazard indices: The Radium Equivalent (Ra_{eq}), Absorbed Dose Rates (D), Annual Effective Dose Rate (AEDR), External Hazard Index (Hex) Internal Hazard Index (Hin) and total excess lifetime cancer risk (ELCR). All the health hazard indices are well below samples were less than the global limit.

Keywords: Radiological Hazards; Peat moss; Perlite; Cultivation medium; HPGe Detector

الملخص باللغة العربية

يوجد الإشعاع الطبيعي أو الخلفية الإشعاعية في كل مكان حولنا طيلة الوقت. وفي هذه الدراسة، تم تحديد مستوى الإشعاع الطبيعي ببعض الأوساط الزراعية المستخدمة لتحسين نمو النباتات كالبيتموس والبرليت عن طريق تحليل طيف أشعة جاما باستخدام كاشف الرصاص عالي النقاوة (HPGe). تم حساب تركيز النشاط الإشعاعي لكل من نويات الراديوم ^{226}Ra وسلسلة الثوريوم ^{232}Th والپوتاسيوم ^{40}K في سبعة نماذج من البيتموس ونموذج من البرليت المتوفرة في الأسواق العراقية. تراوحت قيم تركيز الفعالية للراديوم، الثوريوم والپوتاسيوم ما بين 6.2 ± 2.3 Bq/kg إلى 54.3 ± 28.4 Bq/kg، 2.1 ± 0.3 Bq/kg إلى 29.2 ± 6.4 Bq/kg، 99.3 ± 11.6 Bq/kg إلى 551.2 ± 38.1 Bq/kg على التوالي. وقد تم في هذه الدراسة حساب بعض معاملات الخطورة الإشعاعية: فعالية الراديوم المكافئة (Ra_{eq})، معدل الجرعة الممتصة (D)، الجرعة الفعالة السنوية (AEDR)، دليل الخطورة الخارجي (Hex) والداخلي (Hin) والزيادة الكلية لخطورة الإصابة بالسرطان مدى الحياة (ELCR). كل معاملات الخطورة كانت أقل من المعدلات العالمية.

INTRODUCTION

Peat moss (sphagnum peat moss) is partially fossilized plant matter that is formed in poorly oxygenated waters of marshes, bogs such as mosses. This is used as a soil conditioner, which increases the soil's capacity to hold water and nutrients (1). Perlite is a volcanic glass that is heated to 1.600 degrees F. (871 C), where upon it pops much like popcorn and expands to 13 times its former size used in soil mixes to improve aeration and modify the soil substructure, keeping it loose well-draining and defying compaction. The major radionuclide of concern are potassium, uranium, thorium and their decay products, some of which like radium and radon are intensely radioactive but occur in low concentrations. Most of these sources have been decreasing due to radioactive decay since the formation of the earth, because there is no significant amount currently transported to the earth. Thorium and uranium primarily undergo alpha and beta decay. They aren't easily detectable. However, many of their daughter products are strong gamma emitters (2). Volcanic rocks (and their plutonic equivalents) commonly are enriched in radioactive isotopes especially potassium (3). Many gropes studied the radioactivity of Bog sphagnum, volcanic rocks soil and fertilizers (4-6).

The aim in this work was to determine the concentrations of radionuclide of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K in some kinds of peat moss and perlite that were collected from Iraqi markets.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and samples preparation

Seven (7) samples of peat moss and one of perlite were collected of from the Iraqi markets. The samples were dried in oven about 200°C for 6 hrs., then crushed and sieved through 200 μm mesh to be homogenize sample. The samples weighted and carefully sealed in closed container. They were kept for about four weeks to reach secular equilibrium between thorium and radium contents of the samples and their daughter radionuclides (7). The average sample weight was 500 g.

Experimental set up

Gamma ray spectrometry analysis of the samples for natural radioactivity was carried out by HpGe detector with the resolution (FWHM) of 1332KeV to ^{60}Co is 2.2KeV, and relative efficiency 20%. The detector was controlled by computer with Gain 2000 a software program. The system also contained the usual electronic components of preamplifier, amplifier and power supply in one unit with the Digital Spectrum Analyzer 2000 (DSA-2000) (CANBERRA).

The detector was situated in a well shield the measuring station against all background radioactivity in the room. Measurement takes 3600 sec and subtraction of the background was measured for the same counting time. The gamma spectra were collected. The activities of ^{226}Ra and ^{232}Th in each sample they were determined by measuring the characteristic -peaks of their daughters. The energy regions selected for the corresponding radionuclides (609KeV,1120KeV,1764KeV) for ^{214}Bi to measured ^{226}Ra and (911KeV,969 KeV) for ^{208}Ac to measured ^{232}Th but the activity concentration of ^{40}K was measured directly on gamma ray of 1461 KeV (8).

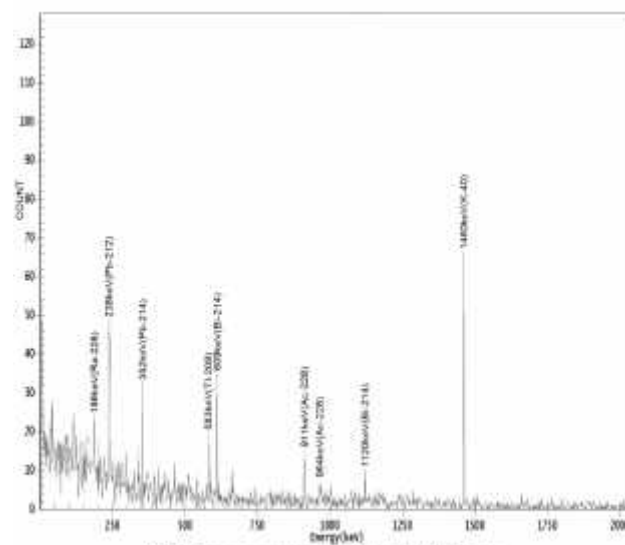
RESULTS AND DISCUSSION

Activity concentration

The activity concentration of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K were calculated by using the following equation (9).

$$A \text{ (Bq)} = \text{CPS} / (\text{DPS. I. eff}) \pm \text{CPS}_{\text{error}} / (\text{DPS. I. eff}) \dots (1)$$

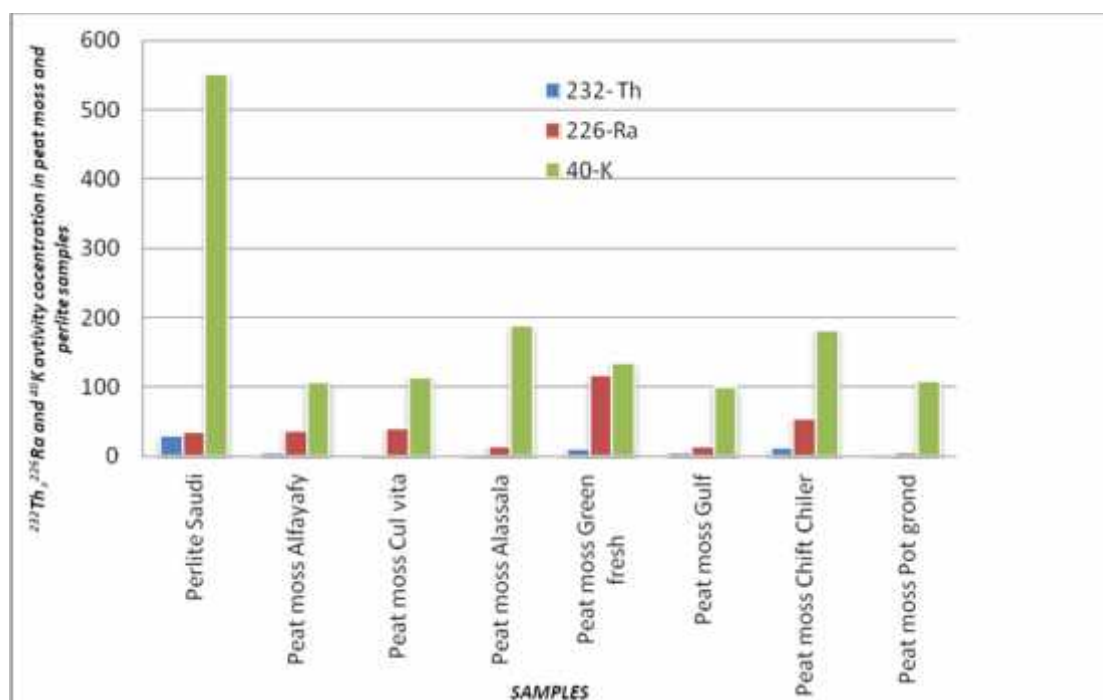
Where CPS is the net count rate per second (figure 1), I is the intensity and eff is the efficiency of the detector. The ^{226}Ra activity concentration ranges from 6.2 ± 2.3 Bq/Kg to 54.3 ± 28.4 Bq/g. ^{232}Th activity concentration ranges from 2.1 ± 0.3 Bq/Kg to 29.2 ± 6.4 and ^{40}K activity concentration ranges from Bq/Kg, as reported in table (1). Figure (2) describes the activity concentration of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K ($\text{Bq} \cdot \text{Kg}^{-1}$) in peat moss and perlite cultivation medium used in Iraq.



Fig(1): The gamma ray spectrum of Alkafayy using HpGe detector

Table (1): The activity concentration of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K in peat moss and perlite cultivation medium used in Iraq

No.	Samples	^{226}Ra Bq/kg	^{232}Th Bq/kg	^{40}K Bq/kg
1	Perlite Saudi	35.2±13.4	29.2±6.4	551.2±38.1
2	Peat moss Alfayafy	37.7±17.6	6.1±1.8	106.8±16.5
3	Peat moss Culvita	39.7±25.3	4.3±1.8	114.3±16.5
4	Peat moss Alassala	14.1±2.8	4±0.4	188.5±14.1
5	Peat moss Green fresh	17.5±3.4	11.2±0.9	153±13.2
6	Peat moss Gulf	14.3±3.4	6.4±1	99.3±11.6
7	Peat moss Chift Chiler	54.3±28.4	13.3±3.9	181.8±20.7
8	Peat moss Pot grond	6.2±2.3	2.1±0.3	109±10.8

Figure (2): Activity concentrations of ^{232}Th , ^{226}Ra and ^{40}K (Bq/Kg) in peat moss and perlite used in Iraq

Radium equivalent activity

Assessment of radiological hazards was made by calculating the radium equivalent activities, external and internal hazard indices. The radium equivalent activity (Ra_{eq}) is a weighted sum of activities of the ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K based on the assumption that 370 Bq/kg of ^{226}Ra , 259 Bq/kg of ^{232}Th and 4810 Bq/kg of ^{40}K produce the same gamma-ray dose rates as given by the following equation (10):

$$Ra_{eq} = A_{Ra} + 1.43A_{Th} + 0.077A_K \dots (2)$$

The results obtained for the radium equivalent activity index Ra_{eq} of all samples of peat moss and perlite were varied from 17.59 to 119.4 Bq/kg as listed in table (2). It is observed that the values of radium equivalent index of all samples are not exceed 370 Bq/kg the maximum permissible limit. Therefore, the results of this study will contribute to

the national data regarding natural radioactivity levels (11).

External hazard (H_{ex})

The external hazard index is defined to be obtained from Ra_{eq} expression through the supposition that its maximum allowed value (equal to unity) corresponds to the upper limit of Ra_{eq} (370Bq/kg). H_{ex} which is given by this equation (12).

$$H_{ex} = \frac{A_{Ra}}{370} + \frac{A_{Th}}{259} + \frac{A_K}{4810} \dots (3)$$

Internal hazard (H_{in})

The internal hazard index, which is given by the expression:

$$H_{in} = \frac{A_{Ra}}{185} + \frac{A_{Th}}{254} + \frac{A_K}{4810} \dots (4)$$

The external and internal hazard indices of samples were varied from 0.047 for pot grond peat moss to 0.31 mGy/y. from 0.06 for pot grond peat moss to 0.415 mGy/y for perlite Saudi, respectively as listed in table (2). It is noticed that external and internal hazards indices are lower than unity for all samples (13).

Gamma radiation hazard I

To estimate the level of γ -radiation hazard associated with the natural radionuclides, another radiation level index suggested by OECD's NEA (14) were evaluated by using the following equation:

$$I = (A_{Ra})/150 + (A_{Th})/100 + (A_K)/1500 \dots (5)$$

A_{Ra} , A_{Th} , and A_K are the activity concentrations (in Bq/ kg) of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K respectively. The radiation level index I of peat moss and perlite samples are varied from 0.133 for pot grond to 0.887 for perlite Saudi, which is found to be less than unity for all samples as listed in table (2).

Table (2): Radiation Hazard parameters for peat moss and perlite samples

	Samples	Ra_{eq} (Bq/Kg)	H_{ex}	H_{in}	I	D (nGy/h)	AEDE ($\mu\text{Sv/y}$)	ELCR $\times 10^{-3}$
1	Perlite Saudi	119.4	0.31	0.415	0.887	55.6	68.19	0.238
2	Peat moss Alfayafy	54.46	0.14	0.24	0.33	24.19	29.66	0.103
3	Peat moss Cul vita	54.66	0.13	0.25	0.38	24.25	29.75	0.104
4	Peat moss Alassala	28.6	0.09	0.13	0.26	16.27	19.95	0.069
5	Peat moss Green fresh	45.29	0.12	0.16	0.33	20.59	25.25	0.088
6	Peat moss Gulf	31.1	0.08	0.117	0.22	14.08	17.26	0.060
7	Peat moss Chift Chiler	87.32	0.227	0.37	0.616	38.76	47.55	0.166
8	Peat moss Pot grond	17.59	0.047	0.061	0.133	8.45	10.37	0.036

Estimation of absorbed and effective dose

The measured activity of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K were converted into doses by applying the factors 0.462, 0.604 and 0.0417 for radium, thorium and potassium respectively (15). These factors were used to calculate the total absorbed gamma dose rate in air at 1 m above the ground level using the following equation:

$$\text{Absorbed dose } D \text{ nGy/h} = 0.462 A_{Ra} + 0.604 A_{Th} + 0.0417 A_K \quad (6)$$

Where, A_{Ra} , A_{Th} and A_K are the activities (Bq.kg⁻¹) of radium, thorium and potassium in the samples. To estimate annual effective doses must be taken into account of :

- 1) The conversion coefficient from absorbed dose in air to effective dose.
- 2) The indoor occupancy factor. The annual effective doses are determined as follows (16):

$$AEDE \mu\text{Sv/Y} = D \text{ nGy/h} \cdot 8760 \text{ h} \cdot 0.7 \text{ Sv/Gy} \cdot 0.2 \cdot 10^{-3} \dots (7)$$

Annual estimated average effective dose equivalent received by a member is calculated using a

conversion factor of 0.7 Sv.Gy⁻¹, which is used to convert the absorbed rate to annual effective dose with an outdoor occupancy of 20% (17).

Excess Lifetime Cancer Risk (ELCR)

The Excess Lifetime cancer risk (ELCR) was calculated using the following equation (18):

$$\text{ELCR} = \text{AEDE} \times \text{DL} \times \text{RF} \dots (8)$$

Where, AEDE is the Annual Equivalent Dose Equivalent, DL is the average duration of life (estimated to 70 years), and RF is the Risk Factor (Sv⁻¹), i.e. fatal cancer risk per Sievert. For stochastic effects, ICRP uses RF as 0.05 for public. Lifetime cancer risk, gamma index for peat moss and perlite samples were studied below the safe limit. The I values for peat moss and perlite samples are below the limit of unity meaning that the radiation dose is below the permissible limit of 1m Svy-1 recommended by IAEA (13).

CONCLUSION

The levels of natural radioactivity in peat moss and perlite samples that used in horticultural in Iraq were determined using high resolution gamma-ray spectrometry. The results can be useful in the assessment of the radiological hazard associated with the exposures and the radiation doses due to naturally radioactive element contents in samples. We noticed that the measured samples were within the recommended safety limits and did not pose any significant source of radiation hazard inhabitants.

REFERENCES

1. Bold HC. (1967). Morphology of plants. 2nd ed. Harper and Row, New York. Pp: 225-229.
2. Philips GW.; Nagel DJ. and Coffey T. (2005). A primer on the detection of nuclear and radiological weapons. Center for Technology and National Security Policy. National Defense University.
3. Hurley BW. (2008). Natural radioactivity in the geologic environment. National nuclear Security Administration, Nevada Site Office, CEMP.
4. Sturges DL. and Sundin RE. (2010). Gross alpha and beta radiation in waters at a Wyoming Mountain Bog, rocky mountain forest and range experiment station. U.S. Water Resour. Res. 4(1): 13-19.
5. Saleh IH.; Hafez AF.; Elanany NH.; Hussein A. Motaweh HA. and Naim MA. (2007). Radiological study on soils, foodstuff and fertilizers in the Alexandria region, Egypt. Turkish J. Eng. Environ. Sci. 31(2): 9-17.
6. Cardoso LX.; Souza SO.; Ferreira FCL.; Ferreira OC.; Barboza E. and Alhanati CE. (2011). Determination of the specific activity of soil and fertilizers in Sergipe – Brazil. Int. J. Environ. Chem. Ecol. Geol. Geophys. Eng. 5(8): 425-430.
7. Pooja C.; Chauhan RP. and Gupta M. (2013). Estimation of naturally occurring radionuclides in fertilizers using gamma spectrometry and elemental analysis by XRF and XRD techniques. J. Microchem. 106:73–78.
8. El-Farrash AH.; Yousef HA. and Hafez AF. (2012). Activity concentrations of ²³⁸U and ²³²Th in some soil and fertilizer samples using passive and active techniques. J. Rad. Measur. 47:644- 648.
9. Boukhenfouf W. and Boucenna A. (2011). The radioactivity measurements in soils and fertilizers using gamma spectrometry technique. J. Environ. Rad. 102: 336-339.
10. Ahmed NK. and El-Arabi AGM. (2005). Natural radioactivity in farm soil and phosphate fertilizer and its environmental implications in Qena governorate, Upper Egypt. J. Environ. Rad. 84: 51-64.
11. (UNSCEAR). (1988). Sources, effects and risks of ionizing radiation. United Nations, New York.
12. Agbalagba EO. and Onoja RA. (2011). Evaluation of natural radioactivity in soil, sediment and water samples of Niger Delta (Biseni) flood plain lakes, Nigeria. J. Environ. Rad. 102:667-671.
13. International Atomic Energy Agency. (2007). Safety Glossary, Terminology used in Nuclear Safety and Radiation Protection.
14. Ajayi TR. and Kuforiji OO. (2000). Natural radioactivity measurement in rock samples of Ondo and Ekiti States in Nigeria. Rad. Measur. 33(1): 13-16.
15. UNSCEAR. (2000). Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. United Nations, New York.
16. Ademola AK.; Bello AK. and Adejumobi AC. (2014). Determination of natural radioactivity and hazard in soil samples in and around gold mining area in Itagunmodi, south-western, Nigeria. J. Rad. Res. Appl. Sci. 7:249 -255.
17. UNSCEAR. (1993). Report to the General Assembly. United Nations, New York.
18. Taskin H.; Karavus M.; Topuzoglu A.; Hindiroglu S. and Karahan G. (2009). Radionuclide concentrations in soil and lifetime cancer risk due to the gamma radioactivity in Kirklareli, Turkey. J. Environ. Rad. 100: 49-53.

Anti hyperglycemic effects of colostrum, virgin and multipara camel milk in alloxan-induced diabetic rats

Rabab S. Salman (1), Ala Al-Deen H. Jawad (2) and Khalid G. Al-Fartosi (3)

(1) College of Veterinary Medicine / University of Thi- Qar (2) Dept. of Physiology / College of Veterinary Medicine / University of Basra (3) College of Sciences / University of Thi- Qar / Republic of Iraq

E –mail: ijst.jordan@yahoo.com

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of colostrums and camel milk treatment on body weight and serum glucose of alloxan induced diabetic rats. The study was divided into three experiments according to period of treatment, first experiment was undertaken to investigate the effect of colostrums through 7 days of treatment, The second experiment was undertaken to investigate the effect of virgin and multipara camel milk through 30 days of treatment, while the third experiment was undertaken to investigate the effect of virgin and multipara camel milk through 60 days of treatment. The results of experiments revealed that the diabetic male rats in second group were suffering from significant decrease at ($p < 0.05$) in body weight and there were significant differences in serum glucose.

Keywords: colostrums, camel milk, alloxan-induced diabetic rats

الملخص باللغة العربية

أجريت هذه الدراسة للكشف عن تأثير العلاج بلباً وحليب الناقة على وزن الجسم ومستوى السكر في أمصال عينة من الجرذان المحفزة للإصابة بالسكري. وتم تنفيذ تجربة الدراسة من خلال ثلاثة تجارب فرعية وفقاً لفترة العلاج، الأولى خلال فترة 7 أيام من العلاج باللباء، والثانية لدراسة تأثير العلاج بحليب الناقة لمدة 30 يوماً، في حين كانت التجربة الثالثة لمدة 60 يوماً. وقد بينت نتائج التجربة الثانية وجود انخفاض معنوي ملحوظ في أوزان الأجسام لدى الجرذان ونقصاً في مستوى السكر في أمصالها.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a chronic systemic disease characterized by an increased blood glucose concentration. The word diabetes is derived from the Greek word “diabainein” and means “to pass through”, referring to the large volume of urine, while mellitus comes from the Latin term “mel”, which means honey and refers to the sweetness of the urine from patients with untreated diabetes. Diabetes is caused by either decreased production of insulin from the pancreatic β -cells or decreased effect of insulin on target tissues or by a combination of these two. Diabetes not only causes disturbances in carbohydrate metabolism, but also affects lipid and protein metabolisms. The two major categories of diabetes are type 1 and type 2 diabetes, previously also called “insulin-dependent” (IDDM) and “non-insulin-dependent” (NIDDM), or “juvenile” and “adult-onset” diabetes, respectively. Type 1 diabetes is characterized by an autoimmune reaction that leads to a total loss of function of the insulin-secreting β -cells of the islets of Langerhans in the pancreas, resulting in absolute insulin deficiency. Type 2 diabetes is the consequence of decreased insulin sensitivity (primarily in skeletal muscles, adipose tissue, and liver) and/or decreased insulin secretion from β -cells. It is the most common form of diabetes and is increasing in epidemic proportions worldwide. Considerable overlap exists between the two conditions, and type 1 and type 2 diabetes have been proposed to be different forms of the same disease, the main difference being the absence of an immune response in patients with type 2 diabetes, leading to a slower rate of β -cell loss. On the other hand, the clear lack of evidence for similar genetic factors predisposing to type 1 and type 2 diabetes supports the notion of two separate diseases. It is predicted that about 366 million people worldwide will be diabetic by the year 2030. There are 2 types of diabetes; T1D and Type2 Diabetes (T2D). T1D is a heterogeneous disorder associated with the destruction of pancreatic beta cells, with the resultant effect of absolute insulin deficiency. Type2 diabetes on the other hand is characterized by resistance to insulin action and suboptimal insulin secretory response. Causes of diabetes range from autoimmune-mediated destruction of beta cells and idiopathic destruction or failure of beta cells. About 5-10% of the total cases of diabetes worldwide are due to T1D. T1D is the most common type of diabetes in children and adolescents while Type2 Diabetes (T2D) is common among young adults. Type1 Diabetes (T1D) has been increasing by 2% to 5% worldwide.

MATERIALS AND METHODS

The study included three experiments and one hundred twenty (120) male rats were used.

Experiment one: was conducted to investigate the effect of the treatment of camels colostrum for 7 days. Twenty four (24) male rats were divided equally and randomly into four groups, as follows:

Group (1) - standard normal control group consists of (6) male rats treated orally with 2 ml of normal saline for 7 days.

Group (2) - diabetic control group consists of (6) male rats that were injected intra peritoneal (I.P.) with (150mg/kg) dissolved in 1/2 ml of alloxan for induction diabetes.

Group (3) - diabetic – insulin group consists of (6 induced diabetic rats) treated with i.p injection of (6 units /kg/day) insulin.

Group (4) -- diabetic – colostrum group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from camels colostrum from the first age group of camel (4-6) years for 7 days.

Experiment two: was conducted to investigate the effect of the treatment with virgin and multipara milk for 30 days. Forty two (42) male rats were divided equally and randomly into seven groups, as follows:

Group (1) - standard normal control group consists of (6) male rats treated orally with 2 ml of normal saline for 30 days.

Group (2) - diabetic control group consists of (6) male rats that were injected intra peritoneal (I.P.) with (150mg/kg) dissolved in 1/2 ml of alloxan for induction diabetes.

Group (3) - diabetic – insulin group consists of (6 induced diabetic rats) treated with i.p injection of (6 units /kg/day) insulin.

Group (4) - diabetic – virgin camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the virgin camel milk for 30 days.

Group (5)- diabetic – multipara camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the multipara camel milk for 30 days.

Group (6) - virgin camel milk group consists of (6 rats) treated orally with 2 ml/day from the virgin camel milk for 30 days.

Group (7)- multipara camel milk group consists of (6 rats) treated orally with 2 ml/day from the multipara camel milk for 30 days.

Experiment three: was conducted to investigate the effect of the treatment with virgin and multipara camel milk for 60 days. Fifty four (54) male rats were divided equally and randomly into nine groups, as follows:

Group (1) - standard normal control group consists of (6) male rats treated orally with 2 ml of normal saline for 60 days.

Group (2) - diabetic control group consists of (6) male rats that were injected intra peritoneal (I.P.)

with (150mg/kg) dissolved in 1/2 ml of alloxan for induction diabetes.

Group (3) - diabetic – insulin group consists of (6 induced diabetic rats) treated with i.p injection of (6 units /kg/day) insulin.

Group (4) - diabetic – virgin camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the virgin camel milk for 60 days.

Group (5)- diabetic – multipara camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the multipara camel milk for 60 days.

Group (6) - diabetic – virgin camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the virgin camel milk for 60 days , killed after 30 days from stopping treatment .

Group (7)- diabetic – multipara camel milk group consists of (6 induced diabetic rats) treated orally with 2 ml/day from the multipara camel milk for 60 days , killed after 30 days from stopping treatment .

Group (8) - virgin camel milk group consists of (6 rats) treated orally with 2 ml/day from the virgin camel milk for 60 days.

Group (9)- multipara camel milk group consists of (6 rats) treated orally with 2 ml/day from the multipara camel milk for 60 days.

The weights of animals were measured on the first and last day of the treatment , the weight difference is calculated.

Six male rats' of each group were sacrificed at the end of the experiment at Day 7, 30, 60 and one month after stopping of treatment in group 5 and 6 , the rats before being sacrifice were first weighed then anaesthetized by placing them in a closed jar containing cotton sucked with chloroform . Rats fasting all night before scarifying.

Blood samples were collected via cardiac puncture. Then the blood sample were drops directly from the heart by using 5 ml disposable syringe . The blood sample were divided in to two part. The first part about 1 ml was put in tube with EDTA for hematological study which were carried out as soon as possible.

The other parts of blood was transferred in to a clean tube , left at room temperature for 15 minutes for clotting, centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes, and then serum was separated and kept in a clean tube in the refrigerator at (2-8°C) until the time of biochemical assay.

All blood samples were collected in the morning (8.30 -10.30 am) in order to minimize the diurnal variation of hormone levels.

RESULTS

Effect of colostrum on serum glucose and body weight of male rats during 7 days

According to the results listed in table (1) , there was significant increase in level of serum glucose

in the (diabetic group) at ($p < 0.05$) compared with control and other all groups of experiment , while the results showed that there was no significant differences in the level of serum glucose between the control and diabetic group treated with insulin but they revealed a significant decrease at ($p < 0.05$) with diabetic group treated with colostrum, which showed a significant decrease compared with diabetic group.

The differences in body weight between the experimental group showed significant decrease in body weight in the diabetic group compared with other groups ($p < 0.05$), while there were no difference between the control and diabetic group treated with insulin but the lost showed no differences with diabetic group treated with colostrum.

Table (1): Effect of 7 days treatment of colostrum she camel on serum glucose and body weight of control and experimental groups of male rats

Groups	Serum glucose (mg/dl) Mean± S.D	Weight (mg/dl) Mean± S.D
Normal control group treated with 2 ml DW\ day for 7 days	96.50 ± 5.75	87.8 ± 0.84
Diabetic control group (7 days)	201.0 ± 6.03	3.56 ± b 0.55
Diabetic group treated with insulin (7 days)	78.91 ± 2.01	6.55 ± 0.46
Diabetic group treated with colostrum (7 days)	118.16 ± 6.08	6.15 ± 0.91
LSD	17.58	2.23

refer to significant differences at ($p < 0.05$).

Effect of virgin and multipara she camel body weight of male rats during 30 days of treatment

Table (2) shows a significant increase at ($p < 0.05$) in the level of serum glucose in the diabetic group compared with control and other all groups . On there hand there were no significant differences between the control group and diabetic group treated with virgin she camel milk , standard control treated with virgin and multipara she camel milk , all of them decrease significantly at ($p < 0.05$) compared with diabetic group treated with multipara she camel milk .

As illustrated in table (2) , the differences in the body weight showed a significant decrease in the diabetic group compared with all other groups, whereas , the diabetic group treated with insulin and diabetic group treated with insulin and diabetic group treated with virgin she camel milk revealed no significantly differences between them , And increase significantly compared with diabetic group

treated with multipara camel milk ,but decrease significantly at ($p < 0.05$) compared with normal control group standard control group treated with virgin she camel milk and standard control treated with multipara she camel milk , but the last showed significant decrease compared with control group that showed no significant differences with standard control group treated with virgin camel milk . The two standard control groups, virgin and multipara had no significant differences between them.

Table (2): Effect of 30 days treatment of virgin and multipara she camel milk on glucose serum and body weight of control and experimental groups of male rats

Groups	Serum glucose (mg/dl) Mean± S.D	Weight (mg/dl) Mean± S.D
Normal control group treated with 2 ml DW\day (30 days)	100.75 ± 11.600	59.33 ± 5.71
Diabetic control group (30 days)	296.66 ± 37.32	20.01 ± 2.09
Diabetic group treated with insulin (30 days)	116.60 ± 45.56	35.68 ± 2.58
Diabetic group treated with virgin she camel milk (30 days)	106 ± 45.17	35.11 ± 4.94
Diabetic group treated with multipara she camel milk (30 days)	192.66 ± 19.40	25.70 ± 2.97
Standard control group treated with virgin she camel milk (30 days)	101.24 ± 40.67	56.25 ± 6.46
Standard control group treated with multipara she camel milk (30 days)	94.78 ± 15.53	52.50 ± 4.08
LSD	52.45	5.68

refer to significant differences at (p 0.05)

Effect of virgin and multipara she camel treatment on serum glucose and body weight during 60 days of treatment

The results in the table (3) indicated a significant increase at ($p < 0.05$) in the level of serum glucose in the diabetic group compared to (normal control and) , other experimental group , while the 3rd , 4th , 5th , 6th , 8th and 9th groups did not revealed significant differences in comparison with control group and between them , but the 7th group showed a significant increase in the level of serum glucose in compared with normal group , 3rd , 4th , 5th , 8th and 9th groups, while did not reported any significant differences with 6th group. Body weight differences through 60 days of treatment clarified on table (3), diabetic group

showed a significant decrees in body weight compare with control and other groups . the result show that 3rd , 4th , 8th and 9th groups reported not significant decrease in body weight compared to control group and between them while the 5th , 6th and 7th group showed a significant decrease compared to control one , but the 6th and 7th group indicate a significant differences compared with 5th group but there was non significant differences between them , white there is no significant differences between the 3rd , 4th and 5th groups.

Table (3): Effect of 60 days treatment of virgin and multipara she camel milk on serum glucose and body weight of control and experimental groups of male rats

Groups	Serum glucose (mg/dl) Mean± S.D	Weight (mg/dl) Mean± S.D
Normal control group treated with 2 ml DW\day (60 days)	111.0 ± 23.40	106.33 ± 12.37
Diabetic control group (60 days)	271.50 ± 63.88	8.16 ± 2.22
Diabetic group treated with insulin (60 days)	110.76 ± 48.35	94.00 ± 15.60
Diabetic group treated with virgin she camel milk (60 days)	87.66 ± 4.92	97.50 ± 12.92
Diabetic group treated with multipara she camel milk (60 days)	104.83 ± 12.18	88.66 ± 9.37
Diabetic group after one month form stopping 60 days treatment with virgin she camel milk	127.75 ± 55.97	44.83 ± 7.13
Diabetic group after one month form stopping 60 days treatment with multipara she camel milk	169.05 ± 37.81	39.31 ± 2.93
Standard control group treated with virgin she camel milk (60 days)	79.00 ± 10.41	104.16 ± 12.81
Standard control group treated with multipara she camel milk (60 days)	94.66 ± 15.48	99.33 ± 12.80
LSD	48.75	15.50

refer to significant differences at (p 0.05)

DISCUSSION

Effect of colostrum and camel milk on serum glucose body weight in male rats

The level of glucose increase significantly in the diabetic groups of the three experiment when compared to control groups due to induction the diabetes by using alloxan in laboratory male rats (1). Thus, due to alloxan are toxic analogues preferred to accumulate in pancreatic β cell via the glucose transporter GLUT2.

Intracellular the alloxan generates reactive oxygen species (ROS) in presence of glutathione, in a cyclic redox reaction diatomic acid, the reduction product, generates superoxide radicals, hydrogen peroxide radicals, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals, which are ultimately responsible for the death of β cell. Alloxan also have the ability to inhibit the β cell glucose sensor glucokinase and that inhibits glucose-induced insulin secretion (2,3), which caused glucose to stop entering cell and this rise of glucose level in the blood (4,5).

Oral treatment with colostrum and camel milk leads to a significant decrease in serum glucose when compared to diabetic groups.

Colostrum hypoglycemic effect is suggested to be mediated by presence of vitamin E, which work by scavenging the reactive oxygen species and caring then a way through chemical neutralization, albumin that tend to be sacrificial protein can absorb (ROS) and stop them from attacking your essential protein and colostrum also contain α -LA (Alpha-lipoic Acid (ALA) which are great modifier act on gene expression to reduce inflammation, very potent chelator for heavy metal and the last important acts as enhancer of insulin sensitivity (6,7).

The mechanism for the hypoglycemic effect of camel milk against diabetics oxidative stress in the rats is due to contain high levels of insulin or insulin-like protein (52 units/liter) insulin. Results obtained from studies of (8-10) found that camel milk is rich in half cystine (amino acid sequence of some camel milk protein) similar insulin family of peptides superficially (10). Thus, it is considered to have therapeutic efficacy due to lack of coagulum formation of camel milk in acidic media of stomach to pass rapidly to intestine and remains available for absorption (10).

Hypoglycemic effect of CM attributed effect by it is potential to rather increase the effect of insulin or by increasing the release of insulin from the pancreatic β -cells (14), the protective effects of camels milk also including antioxidant properties and possible chelating effects on free radicals, it is was found to contain high concentration of vitamins B2, C, A and E, and very rich in magnesium and other trace elements (11-13). These vitamins are useful in preventing toxicant-induced tissue injury (14).

Additionally, camel milk is rich in zinc (15), a trace element essential for more than 300 enzymes activity and it has a relation ship with many

enzymes and can a activation of anti oxidant system so prevent cell damage (16-18).

Body weight decrease in diabetic rats in second group due to loss or degradation of structural protein because of lack of insulin due to diabetes and this lead to lack of entry glucose in to cell which increase protein catabolism. In addition in such circumstances as absence of insulin excess of carbohydrates did not turn to fats (19-21).

Another research suggested that lack of insulin lead to sugar cannot enter inside the cell, thus increasing sugar percentage in the blood, so the body tries to get rid the excess amount of sugar by excretion in the urine, thus lead to reduced amount of water in the body and this causes body weight reduction (22).

Rats treated with colostrum and CM observed a significant improvement in body weight gain the positivity of good nutrition value

Anabolic effect of colostrum and CM via strengthening the gastrointestinal tract through increasing both the rate of secretions of the digestive juices and the motility of the gastro intestinal tract (23), or may be due to CM stimulation most aspects of carbohydrate metabolism, including glucose rapid up take by the cells, increase rat absorption from gastro intestinal tract and even increase insulin secretion and it is effect on carbohydrate metabolism (reduce hyperglycemia) (10, 23).

Isa *et. al* (2013) suggested there were no statistical difference in the body weight on the control, diabetic, diabetic rats treated with CM (24).

REFERENCES

1. Shehab HH.(2015). Physiological study for the effect of Panax ginseng in the normal and diabetic male rats (*Rattus norvegicus*). Bachelor Degree. In Biology. Thi-Qar University, Iraq.
2. Lenzen S. and Panten U. (1988). Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetol.* 31:337-338.
3. Lenzen S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes *Diabetol.* 51:216-218.
4. Hall JE.(2000). Guyton and Hall. Textbook of Medical Physiology. 12th ed. P.: 403.
5. Inawati HW. (2008). The Effect of Inai (*Lawsonia inermis* Linn) leaves extract on blood sugar level: an experimental study. *Res. J. Pharmacol.* 2: 20-23.
6. Guérin P.; El Mouatassim S. and Ménézo Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum. Reprod. Update.* 7(2):175-189.
7. Mercola J.(2016). How nutrition influences cancer. Available at: www.Mercola.com
8. Agrawal RP.; Beniwal R.; Sharma S.; Kochar DK.; Tuteja FC. and Ghorui SK. (2005). Effect of raw camel milk in type 1 diabetic patients.: one year randomized study. *J.Camel Pract. Res.* 12(1): 27-35.

9. Abdalla KO.(2014). An overview of the therapeutic effects of camel milk in the treatment of type1 diabetes mellitus. *J. Biomolec. Res. Therap.* 11: 69-73.
10. Sboui A.; Khorchani T.; Agrebi A.; Djegham M.; Mokni M. and Belhadj O.(2012). Antidiabetic effect of camel milk on alloxan-induced diabetic dogs. *Afri. J. Microbiol. Res.* 6(18): 4023-4029.
11. Yousef MI.; Abdallah GA. and Kamel KI. (2003). Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 76(-2):99-111.
12. Yousef MI.; Awad TI. and Mohamed EH. (2006). Deltamethrin-induced oxidative Damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicol.* 29 (3):227-240.
13. Ismail SM. (2013). Protactive effects of vitamin C against biochemical toxicity induced by malathion pesticides in male albino rat. *J. Evol. Biol. Res.* 5(1):1-5.
14. Al-Humaid AI.; Mousa HM.; El-Mergawi RA. and Abdel-Salam AM. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of dates and dates-camel-milk mixtures as a protective meal against lipid peroxidation in rats. *Am. J. Food Technol.* 5: 22-30.
15. Yagil R. (1982). Camels and camel milk. *FAO Animal production and health paper.*
16. Powell SR.(2000). The antioxidant properties of zinc. *J Nutr.* 130(5S Suppl):1447S-S1454.
17. Ozturk NZ.; Talamé V.; Deyholos M.; Michalowski CB.; Galbraith DW.; Galbraith NG. *et. al.*(2002) . Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. *Plant Molec. Biol.* 48(5): 551-573.
18. Hemieda FAE.; El- Kholy WM.; El-Sayed M. and El-Sawah SG.(2015). Influence of propolis on oxidative stress, inflammation and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rat. *Int. J. Adv. Res.* 3(7): 831-845.
19. Rajagopal K. and Sasikala K.(2008). Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med. J.* 49(2):137-141.
20. Daisy P.; Kanakappan S. and Rajathi M. (2009). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Clitoria ternatea* Linn. in alloxan-induced diabetic rats. *Afr. J. Microbiol. Res.* 3(5): 287-291.
21. Alamgeer MNM.; Bashir S.; Rashid M.; Malik MNH.; Ghumman SK.; Irfan MH.; Akram M.; Khan AQ. and Rashid HU.(2012). Hypoglycemic and hematological effects of aqueous extract of *thymus serpyllum* Linn in alloxan-induced diabetic rabbits. *Afr. J. Pharmacy Pharmacol.* 6(40): 2845-2850.
22. Waer HF. and Helmy SA. (2012). Cytological and histochemical studies in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin induced diabetes and possible protection of certain natural antioxidants. *J. Nutr. Food Sci.* 2:9-12.
23. Mohamed AZ.; El-Asmar AZ.; Rezaq AM.; Mahfouz SM.; Wassef MA.; Fouad HH.; Ahmed HH. and Taha FM. (2013). The effect of a novel curcumin derivative on pancreatic islet regeneration in experimental type-1 diabetes in rats (long term study). *Diabetol. Metab. Synd.* 5:75-81.
24. Isa SA.; Ibrahim KG. and Abubakar I.(2013). Effect of camel milk's supplementation on serum glucose levels, lipid profile and body weight of alloxan-induced diabetic rats. *Niger. J. Basic. Appl. Sci.* 21(3): 187-191.

Histological effects of repeated administration of Ivermectin alone or with the combination of vitamin C on ovaries and uterus of female rabbits

Khawla B. N. Al-Jassim

Veterinary Hospital in Basra / Republic of Iraq

E-mail: dr_vet20076@yahoo.com

ABSTRACT

This study was done to investigate the histological effect of repeated administration of Ivermectin alone or with combination of vitamin C in ovaries and uterus of female rabbits. Total 48 mature female rabbits were divided into 8 groups of equal number (6) as follows: group one was administered 0.9 % NaCl, which act as control. Group two, three and four were administered (0.5mg /Kg, 1mg/Kg, 2mg /Kg B.W Ivermectin) respectively. Group five was administered 50mg/Kg B.W vitamin C only. Group six, seven and eight were administered 50mg/Kg vitamin C in addition to Ivermectin (0.5mg/Kg, 1mg/Kg, 2mg/Kg) respectively. The Ivermectin was given S/C weekly, while vitamin C was given daily P.O. for 8 weeks.

The results showed the histopathological changes in ovaries in all groups which treated with intermediate and high doses of Ivermectin (1mg/Kg and 2mg/Kg) includes secondary cystic follicles, circumscribe and proliferative corpus luteum, and large corpora lutea which is suggested neoplastic as luteoma. While the group which received vitamin C showed normal structure of ovaries with normal primary and secondary follicles with corpus luteum. In uterus, the main histological changes due to ivermectin treatment includes poor activity of uterus, while the histopathological effect of Vitamin C on uterus include well develop uterine horn with papillary mucosal cell epithelium.

In conclusion, Ivermectin exhibits dose response effect and causes many deteriorate histological changes in ovaries and uterus in female rabbits in intermediate and high doses, meanwhile, vitamin C has not well ameliorative these effects positively.

Keywords: vitamin C, Ivermectin, female rabbits

المخلص باللغة العربية

هدفت هذه الدراسة إلى تحديد التأثيرات النسجية للجرع المتكررة من عقار الإيفرمكتين منفرداً أو مع فيتامين ج على مبايض ورحم إناث الأرانب. شملت عينة الدراسة 48 أنثى أرنب بالغة، جرى تقسيمها إلى 8 مجموعات، احتوت كل مجموعة على 6 أرانب. جرعت المجموعة الأولى بمقدار 0.9% من محلول الملح الفسيولوجي واعتبرت كمجموعة سيطرة. وأعطيت المجموعات الثانية، الثالثة والرابعة الإيفرمكتين بجرع 0.5 ملغم، 1 ملغم، و 2 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي. جرعت المجموعة الخامسة بمقدار 50 ملغم/كغم من وزن الجسم بفيتامين ج فقط، بينما جرعت المجموعات السادسة، السابعة والثامنة بفيتامين ج 50 ملغم/كغم من وزن الجسم بالإضافة إلى الإيفرمكتين (0.5 ملغم، 1 ملغم و 2 ملغم / كغم من وزن الجسم) على التوالي. أعطي الإيفرمكتين تحت الجلد أسبوعياً، بينما أعطي فيتامين ج يومياً وعن طريق الفم ولمدة 8 أسابيع.

أظهرت النتائج حدوث تغيرات إمراضية نسيجية بالمبايض بكل المجموعات المعاملة بالإيفرمكتين بالجرع الوسطية والعالية (1 ملغم و 2 ملغم) شملت هذه التغيرات حدوث تكيس بالحويصلات الثانوية وظهور جسم أصفر متطور ومحدد وكبير يعتقد أنه نمو سرطاني حميد يدعى لوتيميا. بينما لوحظ من المجموعة التي عوملت بفيتامين ج التركيب الطبيعي للمبيض من حويصلات ابتدائية وثانوية والجسم الأصفر. كما تبين من النتائج حدوث تغييرات نسيجية في الرحم نتيجة استخدام الإيفرمكتين تمثلت بقلّة نشاط الرحم ، بينما أظهر فيتامين ج تغيرات تضمنت تطوراً جيداً لقرن الرحم والطبقة الطلانية المخاطية.

نستنتج من هذه الدراسة أن الإيفرمكتين له تأثيرات تختلف باختلاف الجرعة المستخدمة، ويسبب العديد من التغيرات النسيجية بالمبايض والرحم لإناث الأرانب في الجرع المتوسطة والعالية، بينما لم يحسن استخدام فيتامين ج تلك التغييرات بصورة إيجابية.

INTRODUCTION

The reproductive organ of the female rabbit's considered primitive. It consists of two ovaries and oviduct, uterus, two cervixes, vagina, and external genitalia (1). The primary organs of female reproduction are ovaries which lies within the abdominal cavity with one on each side near the kidney and responsible for egg or ova production, as well as, hormones primarily Estrogen and Progesterone (2).

The uterus is formed by two independent horns split over their, and it considers the organ in which the embryonic development occur also it provides muscular force expulsion of the fetus at birth (3). Ivermectin is broad spectrum antiparasitic drug belongs to family of Avermectins which includes Abamectin, Emamectin, Eprinomectin and doramectin. It is produce by the fermentative process of *Streptomyces avermilitis* microorganism. Ivermectin is administered in different routes such as orally, subcutaneous, pour on formulation (4). It can be given chewable treats, oral (liquid, pastes, and drenches) and it can take as topical solution for treating mites (5).

Hays and Law (6) concluded that ivermectin was moderately absorbed after oral administration, while it is well absorbed after subcutaneous or intramuscular route. Many studies demonstrated the harmful effects of ivermectin or similar avermectin family on semen quality, characteristic and testosterone level in rabbits (7,8), in goat (9), in ram (10), rats (11), bull (12), and man (13).

Abd-Elhady and Abo-Elgar (14) showed the abamectin caused marked histopathological changes in the testes of the rats which includes degeneration and necrosis of spermatogonia cell lining the seminiferous tubules, and decrease in the number of spermatozoa. Also, Elbeticha and Daas (15) observed an increased amount of interstitial connective tissue of seminiferous tubules and congested blood vessels of the rat testes after treatment with abamectin. Little papers are concerning the histopathological effect of ivermectin on female reproductive system. So this study was aimed to investigate the adverse effect of ivermectin on ovary and uterus structures and also study the role of vitamin C when used in combination of ivermectin of female rabbits.

MATERIALS AND METHODS

The Ivermectin 1% was purchased from local market (VET Product Office, KIPRO Company, Holland) and Vitamin C 500mg (Al-Shahba Labo, Syria).

Animal housing

Total (48) mature female rabbits (*Lepus cuniculus*), (1200-2000gm) body weight and (8-12 months) of age were brought from local market in Basra

Province/ Iraq. The rabbits were housed (6 rabbits / cage) in a wire silk cages measuring (100 X 50 X 50 cm) under controlled animal house condition at temperature ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) and relative humidity ($50 \pm 5\%$) in the animal house of Veterinary Medicine College in Basra University. The rabbits were kept under observation for one months. The animals were offered a rabbit's diet, green leaves, alfalfa, and water.

Experimental design and histological technique

Forty eight (48) mature female rabbits were divided into eight groups (6 rabbits in each group). Each group was treated for 8 week as follow: **Group one:** Injected (0.9 % NaCl) which acts as a control, **Group two** Injected (0.5 mg/kg B.W Ivermectin), **Group three:** Injected (1 mg/kg B.W Ivermectin), **Group four:** Injected (2 mg/kg B.W Ivermectin), **Group five :** administered 50mg/ Kg B.W Vitamin C only, **Group six :** Injected (0.5 mg/Kg B.W Ivermectin +50mg/kg B.W Vit.C), **Group seven:** Injected (1mg/kg B.W Ivermectin + 50mg/Kg B.W Vit. C), and **Group eight:** Injected (2mg/ Kg B.W Ivermectin +50mg/kg B.W Vit. C). The Ivermectin were given subcutaneously and weekly, while vitamin C were given daily and orally. At the end of experiment (8 Weeks), after the animals were sacrificed, the organ samples were taken out ovary and uterus. Then the organs were fixed in 10 % formalin as preservation. The preserved organs were taken and the dehydration was done by passing specimens in ascending concentration of Ethanol, infiltrated with xylene and then was embedded in paraffin. Five-micron thick sections of paraffin-embedded tissue were cut by using microtome and mounted on glass slides, then affixed of ribbon by Mayer's albumin on glass slide, then dehydrated at hot plate overnight and later stained with hematoxylin-eosin stain. The sections were examined by using light microscope (16).

Statistical analysis

The results were analysed by one- way ANOVA test. All statistical calculations were carried out by the aid of the statistical SPSS V. 22 (SPSS Inc.). Least significant different test (LSD) was calculated to test the differences between means.

RESULTS

The microscopic findings of ovaries of control rabbits showed numerous primary and secondary follicles, and corpora lutea (figure 1).

The histological examination of ovaries in the 2nd group showed lack of graafian follicles, presence of occasional secondary follicles (figure 2), while the 3rd group revealed cystic secondary follicles (figure 3). The 4th group showed very large corpora lutea which is suggested neoplastic as luteoma (figure 4), cystic secondary follicles (figure 5). The 5th group

showed primary and secondary follicle and corpus lutum (figure 6). Whereas in 6th group revealed large corpus lutum and secondary cystic follicle (figure 7). The 7th group showed circumscribed corpus lutum proliferated luteoma like (figure 8). Moreover, the 8th group showed secondary follicles and circumscribed corpus luteum (Luteoma like) (figure 9).



Figure (1): ovary of control rabbit within normal limit (H&E) X50. The pointer indicate several primary follicle (arrow), secondary follicle (curve arrow), occasional corpora lutea (double arrow)



Figure (2): ovary of rabbit treated within 0.5mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate presence of, occasionally secondary follicle.

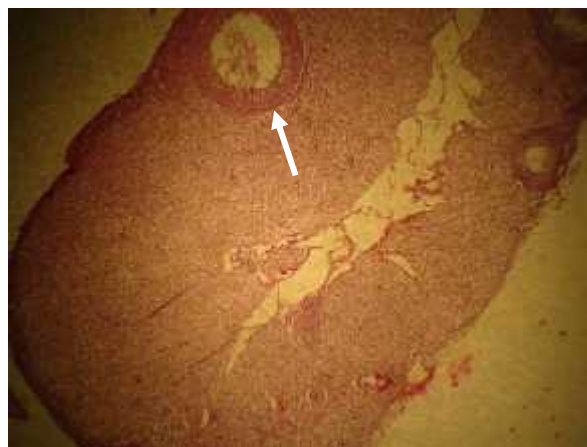


Figure (3): ovary of rabbit treated within 1mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate cystic secondary follicles.



Figure (4): ovary of rabbit treated within 2mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate very large corpora lutea suggested neoplastic as luteoma.



Figure (5): ovary of rabbit treated within 2mg/Kg Ivermectin (H&E) X125. The pointer indicate cystic secondary follicles.

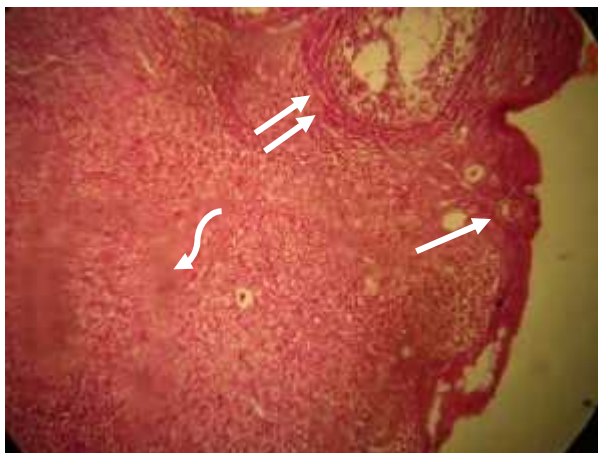


Figure (6): Ovary of rabbit treated with 50mg/Kg Vitamin C (H&E) X125. The pointer indicate primary follicle (arrow), secondary follicle (double arrow), corpus luteum (curve arrow).



Figure (9): Ovary of rabbit treated with (2mg/Kg IVM+ 50mg/Kg Vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate secondary follicle (arrow), circumscribe corpus luteum, luteoma like (star)

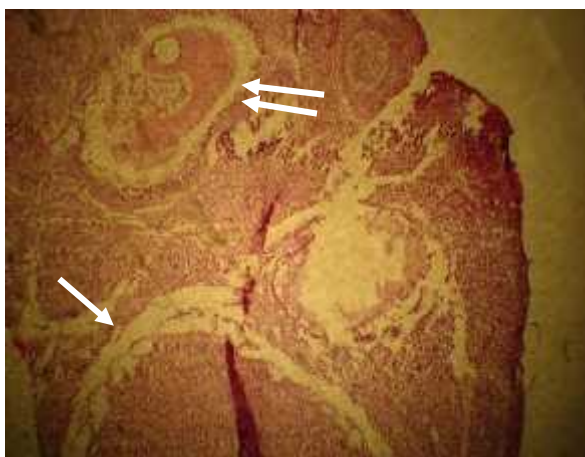


Figure (7): Ovary of rabbit treated with (0.5mg/Kg IVM+50mg/Kg Vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate large corpus luteum (arrow), cystic secondary follicle (double arrow)

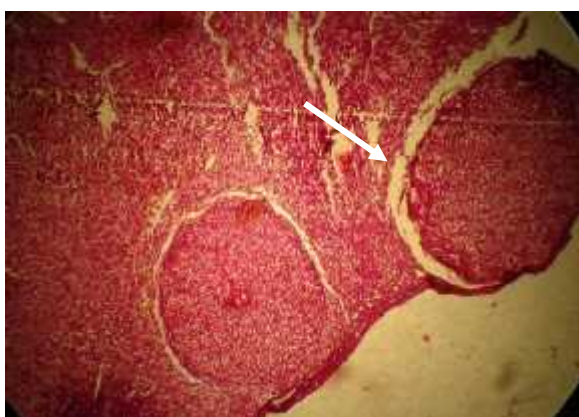


Figure (8): Ovary of rabbit treated with (1mg/Kg IVM+ 50mg/Kg Vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate circumscribed corpus luteum, proliferated luteoma like.

The examination of uterus of control rabbits showed well developed endometrium with papillary proliferation of mucosal epithelium of endometrium (figure 10). The 2nd and 3rd groups showed papillary projection of uterine mucosal epithelium, uterus poor activity (figures 11, 12), while the 4th group revealed uterine horn with papillary mucosal cell epithelium (figure 13). The 5th group showed well developed uterine horn with papillary proliferation of endometrial epithelium (figure 14). The 6th group revealed apparent reduction in development of endometrial epithelium (figure 15). In addition, the 7th group showed slight papillary projection of uterine mucosa (figure 16), and in the 8th group showed poor or reduce development of endometrial epithelium (figure 17).

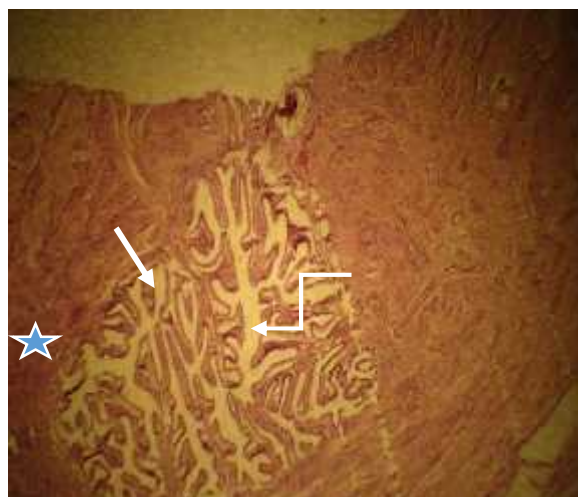


Figure (10): Uterus of control rabbit within normal limit (H&E) X125. The pointer indicate villi (arrow), lumen (curve arrow), Myometrium (star)

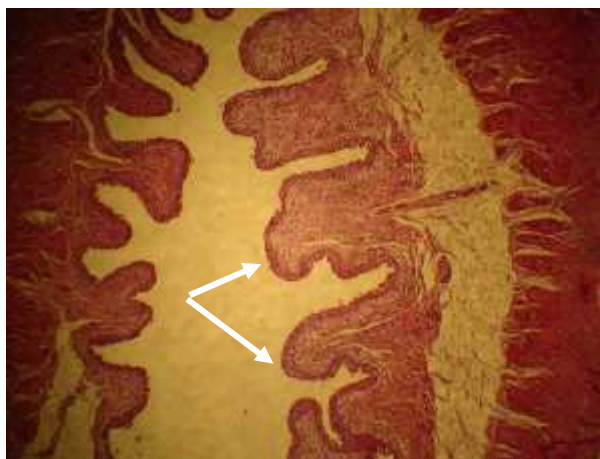


Figure (11): Uterus of rabbit treated 0.5mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate papillary projection of uterine mucosal epithelium, but reduce number of mucus gland in lamina propria.

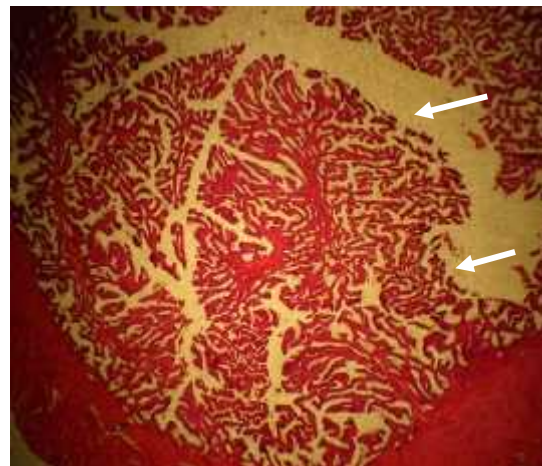


Figure (14): Uterus of rabbit treated 50mg/Kg vitamin C (H&E) X50. The pointer indicate uterine horn well develop with papillary proliferation of endometrial epithelium.



Figure (12): Uterus of rabbit treated 1mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate papillary projection of uterine mucus epithelium.

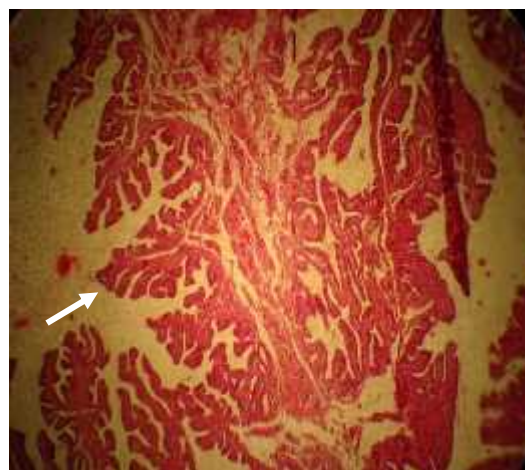


Figure (15): Uterus of rabbit treated with (0.5mg/Kg IVM+50mg/Kg vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate apparent reduction in development of endometrial epithelium.

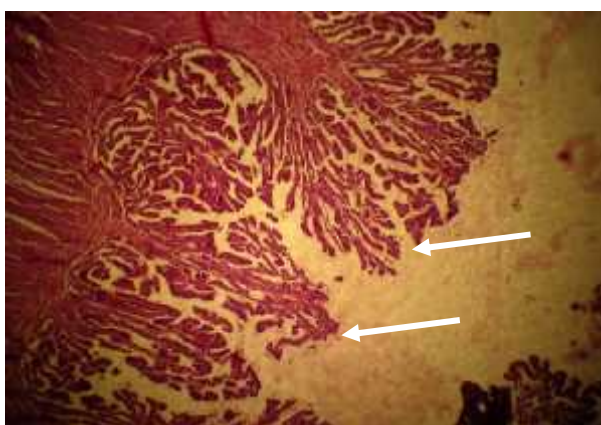


Figure (13): Uterus of rabbit treated 2mg/Kg Ivermectin (H&E) X50. The pointer indicate uterine horn with papillary mucosal cell epithelium.

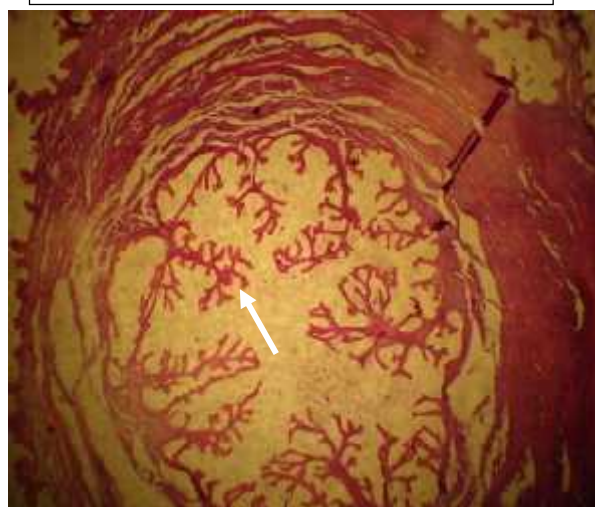


Figure (16): Uterus of rabbit treated with (1mg/Kg IVM+50mg/Kg vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate slight papillary projection of uterine mucosa.

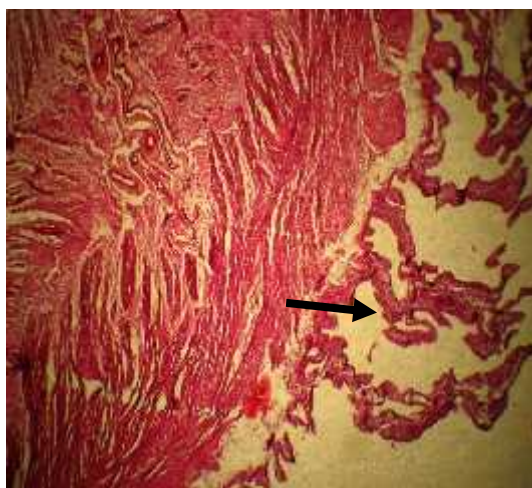


Figure (17): Uterus of rabbit treated with (2mg/Kg IVM+50mg/Kg vit.C) (H&E) X50. The pointer indicate poor or reduce development of endometrial epithelium.

DISCUSSION

In the present study, the poly cystic follicles, and circumscribe corpus luteum (luteoma like) due to administration of ivermectin may be due to hormonal disturbance and/or free radical production due to ivermectin treatment. The control of ovarian stromal cells and germ cell function is a diverse prototype and oxidative stress may be acts as one of the modulators of ovarian germ cell and stromal cell physiology (17). It well documented that ovarian follicular development is regulated primarily by the differential and coordinated action of the two primary gonadotropins FSH and LH (18). Moreover, Vegetti and Alagna, (19) found the FSH considered the principle driving force of folliculogenesis, at least beyond the stage of the preantral follicle. Some researchers found that LH could be considered as stimulator to early stages of follicular growth in ovary (20, 21). The follicle and luteal cyst in the ovaries are so common place as almost to constitute physiological variants. These innocuous lesion originate in un rupture graafian follicles or in follicles that have rupture and immediately sealed (22). Polycystic ovary syndrome is associated with decrease antioxidant concentration and is thus considered an oxidative state (23). Al-Gubory, *et. al*(24) clarified the excessive production of reactive oxygen species may overpower the body natural antioxidant defence system which is creating an environment unsuitable for normal female physiology reaction.

The results of current study is in accordance with (25) who postulated that the uses of ivermectin in overdose caused primary and mature follicles were decrease in number, as well as, hyperplasia of ovarian follicles, atretic follicles, follicular cysts and ovarian atrophy in rats and mice. Some authors found the I/M injection of Doramectin at (0.4mg,

0.6mg/Kg) for 6 weeks to guinea pigs caused degeneration of the oocytes of the small growing follicles and damage of mature follicle in ovaries at fourth dosage, whereas after fifth and sixth weeks of the treatment the ovaries seemed with excess atretic and damage growing follicles(26). On the other states, vitamin C is very important in remodelling the basal membrane during follicular growth and the ability of follicles to uptake ascorbic acid confers an advantage in term of granulosa cell survival(27). Another investigators noticed the administration of vitamin C caused increase in graffian follicle, congestion of blood vessels of the ovaries, as well as, it caused ameliorative effect on the ovary toxicity due to of KMno4 therapy in rats (28).

In present study, the microscopic finding in uterus due to ivermectin therapy revealed papillary projection of uterine mucosal epithelium, reduce number of mucus gland in lamina propria, poor activity, and vacuolation in mucosal epithelial cell. This may be explained due to hormonal disruption especially estrogen which one of its function responsible for stimulation of the growth of endometrium (29). Actually, our previous work on ivermectin which showed a decrease in Estrogen level (30).

The results of thist study is in tone with (26) who showed the injection of 0.4mg and 0.6mg/Kg of Doramectin I/M for 6weeks to ginea pigs caused adverse effect in uterus which appear from the 3 doses of administration which characterized by infiltration of endometrium and aggregation of mononuclear cell with congestion of perimetrial blood vessels, while from 4th doses to the end of experiment, the endometrial gland has been degenerated, atrophied and widely separated by the oedema with cellular reaction. In fact, the ivermectin therapy when given in overdoses to rats and mice caused an increase prevalence of uterine glands, uterine epithelia and hyperplasia of gland were markedly presented on diverse patterns adenoma like structure and single nodular or multiple polyp like adenoma. In present study the microscopic finding of uterus in group which administered vitamin C only has been proved well develop uterine horn with papillary proliferation of endometrial epithelium this occur may be due to protective effect of vitamin C (25).

In conclusion, Ivermectin exhibits dose response effect and causes many deleteriate histological changes in ovaries and uterus in female rabbits in intermediate and high dose, meanwhile, vitamin C has not well ameliorative these effects.

Acknowledgment:

The researcher would like to express my deep thanks to Professor Dr. Salih Khadim Majeed / Department of Pathology, Veterinary Medicine College in Basra University for his help in the histopathological reading of the slides.

REFERENCES

1. McLaughlin CA. and Chiasson RB. (1990). Laboratory anatomy of rabbit. McGraw Hill p.: 83.
2. James I.; Nephi MP.; Peter RC. and Steven DL. (1996). Rabbit production 7thed. McGraw Hill.
3. Nalbandove AV. (1964). Reproductive physiology: comparative reproduction physiology of domestic animals. Laboratory animals and Man. 2nd ed. W. H. Freeman Company San Francisco and London.
4. Bloom RA. and Matheson JC. (1993). Environmental assessment of avermectins by the US food and drug administration. Vet. Parasitol. J. 48:281-294.
5. Plumb DC. (2008). Plumbs veterinary drug handbook. Blackwell publishing. 6th ed. Stockholm. P: 508.
6. Hayes WJ. and Law ER. (1991). Handbook of pesticide toxicology. Vol.2. classes of pesticide. Academic press Inc. San Diego, California. P.:1576.
7. El-Far AH. (2013). Effect of therapeutic and double therapeutic doses of ivermectin on oxidative status and reproductive hormones in male rabbits. AJAVS. 8(3):128-133.
8. Emam EE. and El-Abdalla O. (2000). Effects of ivermectin and moxidectin on fertility and some biochemical parameters in male rabbits. Egypt. J. Agri. Res. 78(1): 293-301.
9. Onakpa MM.; Ajagbonna OP.; Onifade KI. and Akande M. (2010). Effects of Diminazene aceturate and Ivermectin on semen and serum parameters of the red Sokoto buck. Int. J. Chem. Tech. Res. 2(1): 738-743.
10. Naoman UD. (2012). Effect of Ivermectin on semen characteristics of Iraqi Awassi ram. Al-Anbar J. Vet. Sci. 5(2):129-133.
11. El-Nahas AF. and El-Ashmawy IM. (2008). Effect of Ivermectin on male fertility and its interaction with P-glycoprotein inhibitor (Verapamil) in rats. Environ. Toxicol. Pharmacol. J. 26(2): 206-211.
12. El-Desouki NI.; Tabl GA.; Zeidan AEB.; Tag El-Deen MA. and Kamel RA. (2013). Ultrastructure study of frozen thawed spermatozoa of Friesian bull treated by certain anthelmintic drug. J. Am. Sci. 9(7): 190-199.
13. Idonije OB.; Asika EC.; Okhiai O. and Nweke IN. (2011). Effects of Ivermectin therapy on the sperm functions of Nigerian Onchocerciasis patients. Arch. Appl. Sci. Res. J. 3(3): 533-543.
14. Abd-Elhady HK. and Abou-Elghar GE. (2013). Abamectin induced biochemical and histopathological changes in the albino rat, *Rattus norvegicus*. J. Plant. Prote. Res. 53(3): 263-270.
15. Elbetieha A. and Daas SI. (2003). Assessment of antifertility activities of abamectin pesticide in male rats. Ecotoxicol. Environ. Safety. 55(3):307-313.
16. Bedaiway MA. and Falcone T. (2003). Peritoneal fluid environment in endometriosis. Clinicopathological implications. Minerva Ginecol. 55:333-345.
17. Luna LG. (1968). Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institutes of pathology. 3rd ed., New York, McGraw Hill.
18. Roades RA. and Tanner GA. (2003). Medical physiology. 2nd ed. Lippincott Williams.
19. Vegetti W. and Alagna F. (2006). FSH and folliculogenesis: from physiology to ovarian stimulation. Rep. Bio Med. 12:684-694.
20. Tajima K.; Orisaka M.; Mori T. and Kotsuji F. (2007). Ovarian theca cells in follicular function. Reprod. Bio. Med. 15(4):591-609.
21. Mori T.; Nonogauchi K.; Watanabe H.; Ishikawa H.; Tamura I. and Kinoshita K. (2009). Morphogenesis of polycystic ovaries as assessed by pituitary ovarian androgenic function. Reprod. Bio. Med. 18:635-643.
22. Palacio JR.; Iborra A.; Ulcova-Galova Z.; Badia R. and Martinez P. (2006). The presence of antibodies to oxidative modified proteins in serum from polycystic ovary patients. Clin. Exp. Immunol. 144:217-222.
23. Kumar V.; Cotran R. and Robbins S. (2003). Robbins Basic Pathology. 7th ed. Philadelphia.
24. Al-Gubory KH.; Fowler PA. and Garrel C. (2010). The roles of cellular reactive oxygen species oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. Int. J. Bio. Chem. Cell Biol. 42:1634-1650.
25. Cho YJ. and Lee CS. (1996). Histopathological observation on the uterus and ovary of rats and mice treated with Ivermectin. Korean J. Vet. Res. 36(2):429-440.
26. Al-Hizab FA. and Hassieb MM. (2010). Histopathological studies on the effect of repeated doses of Dectomax on some genital organs of female guineapigs. Sci. J. King Faisal Bas. Appl. Sci. 11(2): 207-215.
27. Murray AA.; Molinek MD.; Baker SJ.; Kojima FN.; Smith MF.; Hillier SG. and Spears N. (2001). Role of ascorbic acid in promoting follicle integrity and survival in intact mouse ovarian follicle in *vitro*. Reprod. 121(1):89-96.
28. Al-Katib SR.; Al-Azam AH. and Habeeb SA. (2012). The effect of vitamin C on ovary of female white rats treated with KMNO4 histological and physiological study. Kufa J. Vet. Med. Sci. 3(2):1-16.
29. Bhattacharyya B. (2000). Textbook of veterinary physiology. 1st ed. Kalyant Publishers. India.
30. Al-Jassim KHB.; Jawad AH. and Al-Masoudi EA. (2015). Adverse effects of repeated doses of Ivermectin alone or with the combination of vitamin C on reproductive system of female rabbits. Indian J. Appl. Res. 5(9):70-73.

Molecular study of origin of Newcastle virus isolated in Iraq

Ameen A. S. Al-Rawi

Dept. of Microbiology / College of Veterinary Medicine / University of Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: ijst.jordan@yahoo.com

ABSTRACT

Newcastle disease (ND) caused by virulent avian paramyxovirus type1 is responsible for devastating outbreaks in poultry flocks in Iraq. In this study, isolates obtained from ND suspected outbreaks during 2014-2016 of layers, broilers farm and wild pigeon were characterized by intracerebral pathogenicity index (ICPI) and genetically on the basis of molecular analysis of the partial F gene sequences. The ICPI value of Iraqi pigeon isolate 1.4 and Iraqi chicken isolate 1.9-1.8.

The mean death time (MDT) of NDV isolated from chicken and pigeon were 35-36, and 48 hours respectively. These are indicative of the velogenic nature of these NDV Iraqis isolates.

The partial F gene sequencing of chicken/ Iraqi/2/ 2016/ isolate showed identity of 98% to Newcastle virus chicken china / Jilin / YS03/ 2015, while the chicken/ Iraqi/ 2015 isolate showed identity of 87% to Newcastle virus chicken Iran / HG/ 2010. showed identity of 96% of the pigeon/ Iraqi /1/2014 to NDV pigeon / Russian /Moscow 407/04 and also showed identity of 85% to the chicken china /SD4/ 2008, while chicken/ Iraqi /4 / 2014 showed identity of 85% to the Newcastle virus chicken china SD4 / 2008. Based on the high nucleotide similarity between these Iraqi NDV isolates and the Chinese NDV strain indicates that the origin is Chinese.

The similarity between viruses obtained from chicken and those obtained from wild pigeon ranged from 82-85% so further study will be useful to understand the role of wild birds in the epidemiology of NDV in Iraq.

Keywords : NDV, Chicken, Pigeon, Sequence

الملخص باللغة العربية

مرض النيوكاسل فيروس يصيب الدجاج سببه عترة ضارية ليراميكسوفايروس نوع 1 ، وهذه العترة مسؤولة عن إصابات حقول الدواجن في العراق. في هذه الدراسة، أخذت عترة متوقعة لفيروس النيوكاسل من حقول الدواجن اللاحة والبيض ومن الحمام غير الداجن للفترة من 2014-2016. صنفت عترة النيوكاسل المعزولة بيولوجيا بفحصي ICPI index و MDT ، فكانت نتائج ICPI index لعزلات حقول الدواجن (2014، 2015، 2016) 1.8 ، 1.9 ، 1.8 ، 1.4 على الترتيب وللحمام غير الداجن 1.4 ، أما وقت معدل قتل الجنين (MDT) لعزلات حقول الدواجن 35 ، 35 ، 36 ساعة، وكان معدل لعزلة الحمام غير الداجن 48 ساعة، وهذا دليل على ضراوة عزلات الدجاج و الحمام غير الداجن. أجريت عملية فحص تتابع القواعد النيتروجينية الجزئي لجين F للعترة المعزولة. أعطت العترة العراقية رقم 2 معزولة في 2016 تشابها بنسبة 98% لعترة النيوكاسل المعزولة في الصين (CHINA\JILIN\YS03\2015)، في حين أعطت العترة العراقية رقم 3 معزولة في 2015 تشابها بنسبة 87% للعترة الإيرانية (Iran\HG\2010) وكذلك أعطت العترة العراقية رقم 1 المعزولة في 2014 من الحمام غير الداجن تشابها بنسبة 96% لعترة النيوكاسل الروسية المعزولة من الحمام غير الداجن (Russian\Muscow\407\04)، في حين أعطت هذه العترة (المعزولة من الحمام غير الداجن) نسبة تشابه 85% للعترة الصينية المعزولة من الدواجن (China\chicken\SD4\2008) وهي نفس نسبة التشابه (85%) التي أعطتها العترة العراقية رقم 4 المعزولة من حقول الدواجن لعزلة النيوكاسل المعزولة في الصين (China\chicken\SD4\2008)، مما يرجح أن هنالك علاقة في نقل هذه العترة الصينية من الحمام غير الداجن إلى حقول الدواجن لتساوي نسبة التشابه بين العترة الصينية التي أصابت حقول الدواجن والحمام غير الداجن خلال عام 2014. إن معدل التشابه بين فيروسات النيوكاسل المعزولة من الدواجن والتي عزلت من الحمام غير الداجن تتراوح بين 82-85% ، مما يستوجب إجراء دراسات مستقبلية لفهم دور الطيور المهاجرة في نقل هذا المرض (وبائيا) إلى العراق.

INTRODUCTION

Newcastle disease (ND) is highly contagious and devastating disease of poultry caused by Newcastle Disease Virus (NDV), also known as Avian paramyxovirus type -1 (APMV-1), it is classified under the genus *Avulavirus* of family *paramyxoviridae* (1).

Based on genomic size and nucleotide sequences of F and L gene NDVs can be categorized as class I or class II viruses (2). Class I NDVs are occasionally isolated from wild aquatic birds and domestic poultry are mostly a virulent to chickens. Class II contains viruses that have been isolated from multiple wild birds and poultry species. Most virus within this group are virulent and cause significant economic losses to poultry industry worldwide (2). The key contributor to ND pathogenicity is the formation of an active fusion protein upon cleavage of F protein precursor (F0), which facilitated by the presence of a number of basic amino acid residues in fusion protein cleavage site (3). NDVs that are virulent for chickens have a multiple basic amino acid sequence 112 R/K-R-Q-K/R-R 116. At C terminus of F2 protein and F (phenylalanine) at residue 117 which is the N-terminus of F1 protein, whereas the viruses of low virulence have a monobasic amino acid sequence in the same region of 112 G/E-K/R-Q-G/E 116 and L (Leucine) at residue 117 (4).

MATERIALS AND METHODS

Isolation and characterization of NDV variants

Samples were collected during NDV outbreaks in Baghdad area in poultry farms and wild pigeon. Tissue samples from dead birds were collected from suspected outbreaks around Baghdad province, samples from pigeon were also collected from suspected ND outbreaks in wild pigeons around the same area. Collected organs (trachea, lungs and brain) processed for virus isolation according to the standard virus isolation methods (5). Briefly 10% w/v organ suspension in phosphate buffer saline (PH 7.2) were homogenized, clarified by centrifugation and inoculated into 9-11 day old embryonated chicken eggs into allantoic cavity. Inoculated eggs candled every 24 hours. Eggs containing dead embryo were removed from incubator and chilled at + 4°C overnight. Allantoic fluid were harvested and tested by haemagglutination assay.

The HA and HI assays were carried out according to the manual of world organization for animal health (5). Inactivated NDV antigen (LaSota) strain was used as positive control. Intracerebral pathogenicity index (ICPI) test was carried out in day – old chicken according to (6). The mean death time (MDT) of the NDV isolates were performed according to the published protocol of (7).

Molecular characterization

Viral RNA was extracted using the viral gene – spin viral DNA/RNA extraction kit (Intron, Biotechnology, Korea). Firstly, tracheal, lungs and Caecal tissue were homogenized. Two RT-PCR assay targeting the fusion gene (traditional and nested PCR) to identify the type of NDVs strains was carried out (9,10).

The NDV primers for the traditional Rt-PCR NDV are 5° -GGAGGATGTTGGCAGCATT-3° and NDVD 5° GTCAACATATACACCTCATC- 3° were used to give RT-PCR product of 318 bp (Stauber et al 1995) (figure 1).

Two sets of primers were used for first and second round of NDV nested Rt-PCR. The first round primer was used:

5°-GCAGCTGCAGGGATTGTGGT-3° and

5°-TCTTTGAGCAGGAGGATTGTTG-3°

and for second round the primers were

5°-CCCCGTTGGAGGCATAC-3° and

5°: TGTTGGCAGCA TTTTGATTG-3°.

The nested Rt-PCR product of 216 bp (9,10).

Sequencing

The purified Rt-PCR products were sequenced using ABI Prism 310 genetic analyzer – Jovac – Jordan (applied biosystem USA). Nucleotide sequences were exported to Bio Edit. Serotype reference sequences were obtained from the NCBI Genbank (www.NCBI.nlm.nih.gov) multiple sequence alignment were made using clustal W. Sequence comparisons were made using BLAST. Sequence search also available from NCBI (11). Percentage of nucleotide similarity was calculated using DNA STAR software. Phylogenetic analysis was done using phyml software.

RESULTS

Four haemagglutinating isolates were obtained from poultry farms outbreak that reacted with monospecific antiserum specific for avian paramyxovirus, and were identified as Newcastle disease virus by HI test. Besides all the four isolates were confirmed positive for virulent NDVs. The ICPI value of the chicken / Iraq /2/2016, chicken/ Iraqi 3/2015, chicken /Iraq /4/2014 and pigeon/ Iraq /1/2014 were 1.9, 1.8, 1.8 and 1.4 respectively while the mean death time (MDT) of the isolates were 35, 36, 36, 48 hrs. respectively (table 1).

RT- PCR product of 318 bp (figure 1) for the first round of NDV nested RT-PCR. The nested second round RT-PCR product of 216 bp was obtained (data not shown).

Phylogenetic analysis of partial F gene sequences showed percentage of nucleotide similarity between the viruses from chickens and those from pigeons ranged from 82-86%. Was calculated using DNA STAR software (figure 2).

Sequencing analysis of sample isolate compared with highly related identity by using blast software program showed identity of 96% of the pigeon/Iraqi /1/2014 to NDV pigeon / Russian /Moscow 407/04 accession number jf824018.1 and also showed identity of 85% to the chicken china /SD4/ 2008 accession number HM748947.1, while chicken /Iraqi/ 4 / 2014 showed identity of 85% to the

Newcastle virus chicken china SD4 / 2008 / accession no. HM748947.1.

The partial F gene sequencing of chicken Iraqi to 2016 isolate showed identity of 98% to Newcastle virus chicken china / Jilin / YS03/ 2015 accession no. KU200238.1, while the chicken Iraqi 2015 isolate showed identity of 87% to Newcastle virus chicken Iran / HG/ 2010 accession no. JX131352.1.

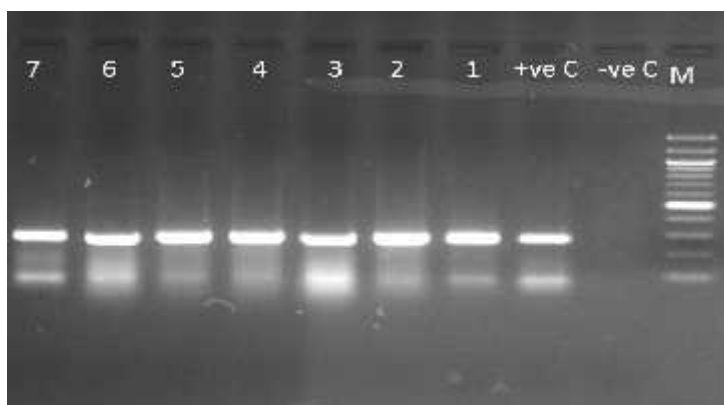


Figure (1): Agarose gel electrophoresis PCR amplification of F protein gene (318bp) of NDV M ladder of 100 bp. negative control, positive control well 1 - 6 NDV chicken Iraqi isolates well 7 NDV pigeon Iraqi isolates

Table (1): ICPI, MDT and the related virus on gene bank

ND Iraqi isolate	ICPI value	MTD value	Virus related on Gene bank	Percentage of identity	Accession no.
Chicken/ Iraq /2/2016	1.9	35 hours	Chicken China jilin/ys03/2015	98%	Ku200238.1
Chicken/ Iraqi /3/2015	1.8	36 hours	Chicken Iran HG 2010	87%	Jx131352.1
Chicken/ Iraqi/4/2014	1.8	36 hours	Chicken Chinese SD4 / 2008	85%	HM748947.1
Pigeon/ Iraqi /1/2014	1.4	48 hours	Pigeon Russia / Moscow 407/04	85%	Jf824018.1

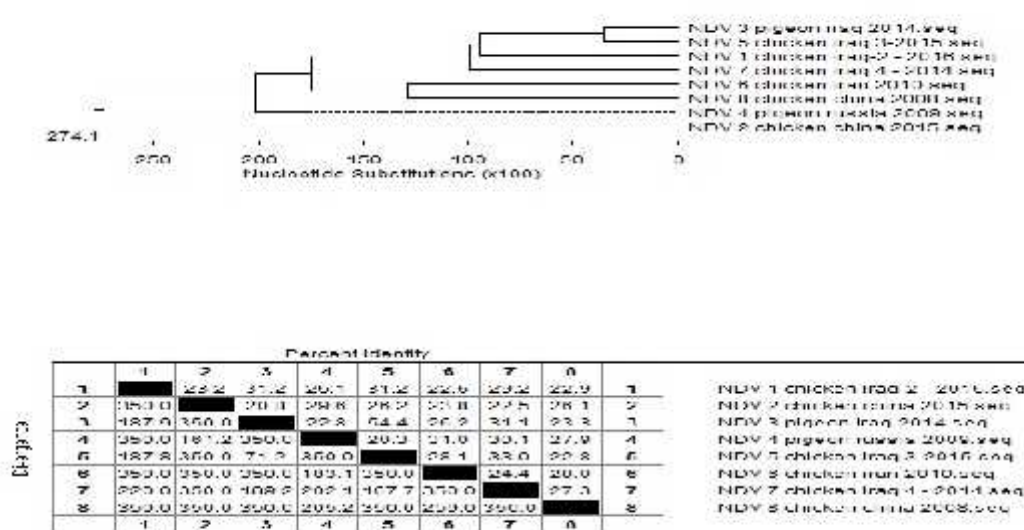


Figure (2): Percentage of nucleotide similarity of the 4 most closely related Iraqi NDV isolates was calculated using DNA STAR software

DISCUSSION

ND is an endemic disease in Iraq since 1968. AG 68 L was the isolated vaccine strain. The immunity of some Iraqi isolated were studied by (12). Due to uncontrolled procedure of importing vaccines and biosafety, four new isolates were characterized indicating different origin (China, Iran, and Russia). But could be the same clad, China origin isolated MDT(45 hrs) while the similar characterized Iraqi isolated 2016 MDT was (35hrs) indicating it is higher virulent than the original one.

Also, ICPI showed the same virulence (1.9), while the original isolate was (1.8). Other isolates showed the same high virulence compared with the original isolates (table 1), which in turn indicated how ND endemic became in Iraq which should be of higher mortality and long term of endemic.

Available commercial vaccine cannot protect incidence of ND due mostly to these change in virus virulence. Pigeon isolate has showed identity between Russian (96%) and china strain (85%) this could point to the responsibility of pigeon isolate in transport infection to chicken's farms. Detection of multiple amino acids is an indication of virulence (4), this procedure could not be done due to lack of facilities, but ICPI could be a substituted. Failure to demonstrate the characteristic pattern of amino acid residues between residue 113 and 116, would require characterizations of the isolated virus by an ICPI test (13).

Vaccination with Hitchner B1 and LaSota strain belong phylogenetically to the same genotype (I and II) and are divergent from NDVs that cause the current outbreaks, ND outbreaks could occur despite intensive vaccination against NDV (14,15).

This might be associated with genetic and antigenic divergence between vaccine strain and the circulating field strain (16,2).

Acknowledgement

The researcher would like to thank Miss Hazar Shaweesh for her sequencing assistance at Jovac company, Jordan

REFERENCES

1. Mayo MA. (2002). A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. Arch Virol. 147:1655–1656.
2. Miller PJ.; Estevez C.; Yu Q.; Suarez DL.; King DJ. (2009). Comparison of viral shedding following vaccination with inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses. Avian. Dis. 53(1): 39-49.
3. Toyoda T.; Sakaguchi T.; Imai K.; Inocencio NM.; Gotoh B.; Hamaguchi Nagai Y. (1987). Structural comparison of the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein between virulent and a virulent strains of Newcastle disease virus. Virol. 158:242–247.
4. Kim LM.; King DJ.; Guzman H.; Tesh RB.; Travassos DA.; Rossa APA.; Bueno R.; Dennet JA.; Afonso CL. (2008). Biological and phylogenetic characterization of pigeon paramyxovirus serotype 1 circulating in wild North American pigeons and doves. J. Clin. Microbiol. 46(10):3303–3310.
5. Office of International Epizootics (2013) Newcastle disease. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Paris, France, chapter 2.3. p.:149.
6. Alexander DJ. (1989). Newcastle disease. In: Purchase HG.; Arp LH.; Domermuth CH. and Pearson JE. (eds.) A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 3rd ed. American Association of Avian Pathologists, Kenneth Square. Pp.: 114-120.
7. Alexander DJ. (2000). Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics) 19:443–462.
8. Stauber N.; Brechtbuhl K.; Bruckner L. and Hofmann MA. (1995). Detection of newcastle disease virus in poultry vaccines using the polymerase chain reaction and direct sequencing of amplified cDNA. Vaccine. 13:360–364.
9. Gould AR.; Kattenbelt JA.; Selleck P.; Hansson E.; Della-Porta A. and Westbury HA. (2001). Virulent newcastle disease in Australia: molecular epidemiological analysis of viruses isolated prior to and during the outbreaks of 1998–2000. Virus Res. 77:51–60.
10. Nanthakumar T.; Kataria RS.; Tiwari AK.; Butchiah G. and Kataria JM. (2000). Pathotyping of Newcastle disease viruses by RT-PCR and restriction enzyme analysis. Vet. Res. Commun. 24:275-286.
11. Thompson JD.; Higgins DG. and Gibson TJ. (1994). CLUSTALW: Improving sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing, position specific gap penalties and weight matrix choice. J. Nucl. Acid. Res. 22:4673-4680.
12. Jalob Z K.; Taha MD.; Jumaa MM.; Najim DA. and Salman AA. (2011). Immune response against newcastle disease virus (NDV) in broiler chickens. Al-Anbar J. Vet. Sci. 4(2): 23-32.
13. OIE. (2008). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Available at: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summary.html>
14. Bogoyavlenskiy A.; Berezin V.; Prilipov A.; Usachev E.; Lyapina O.; Korotetskiy I.; Zaitceva I.; Asanova S. et al. (2009). Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998(2000), 2001, 2003, 2004, and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIII. Virus Gen. 39:94–109.
15. Hassan W.; Khair SA.; Mochotloane B. and Abolnik C. (2010). Newcastle disease outbreaks in the Sudan from 2003 to 2006 were caused by viruses of genotype. Vaccine. 27:904–910.

16. Hu S.; Ma H.; Wu Y.; Liu W.; Wang X.; Liu Y. and Liu X. (2009). A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics. Vaccine. 26:780-790.

قسم الدراسات والبحوث العربية

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION

ثقافة توظيف الإنترنت في البحث العلمي الأكاديمي : جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف أنموذجا

ساسبي سفيان

قسم علم الاجتماع / جامعة الطارف / الجزائر

البريد الإلكتروني: Saci_Soufiane@Yahoo.Fr

الملخص باللغة العربية

لقد أحدثت شبكة الإنترنت أثرا كبيرا في كثير من مجالات استخداماتها وتزايدت اهتمامات العلماء والباحثين في كيفية الاستفادة منها في الجوانب البحثية، العلمية والمعرفية. ولذلك تأتي هذه الدراسة من أجل الكشف عن ثقافة توظيف الإنترنت في البحث العلمي الأكاديمي لدى الباحثين في جامعة الشاذلي بن جديد في الطارف/ الجزائر، وإلى إبراز الدور الكبير الذي تحظى به شبكة الإنترنت في البحث العلمي من خلال ما تقدمه من خدمات متعددة للباحثين في مجال تخصصاتهم، وتكونت عينة الدراسة من (112) أستاذ وطالب باحث في الدراسات العليا موزعين على أقسام وكليات الجامعة، وتم جمع البيانات باستخدام الملاحظة، والاستبيان الذي يتشكل من (35) عبارة تمت صياغتها على طريقة ليكرت، وقد تم استخدام برنامج الحزم الإحصائية الاجتماعية (SPSS 16) في التعامل مع البيانات.

وقد توصلت الدراسة إلى جملة من النتائج أهمها أن المبحوثين يقومون بتوظيف الإنترنت في صياغة الفصول والبحث عن المستندات من الدراسات، التجارب والاختبارات التي لها علاقة بالدراسة، وأنهم يستفيدون من الإنترنت باستخدام محركات البحث والمشاركة في المنتديات والندوات والتواصل مع المختصين، كما يؤكدون أن هنالك عدة عراقيل تحول دون استخدام الإنترنت في إنجاز بحوثهم تتراوح ما بين الصعوبات الشخصية مثل عدم التمكن من اللغات الأجنبية وعدم الاقتناع بأهمية الإنترنت وضعف المستوى في استخدام الإنترنت والبيئية مثل: عدم وجود مواقع متخصصة، وعدم وجود قواعد بيانات تسهل عملية البحث وعدم توفر الإنترنت بشكل دائم في جامعة الطارف.

كما خلصت الدراسة إلى مجموعة من التوصيات منها ضرورة تحفيز الباحثين على القيام بدورات تدريبية في مجال استخدام الإنترنت، وتوفير مجالات في جامعة الطارف لمستخدميها.

الكلمات المفتاحية: الجامعة، المجالات الإلكترونية، التواصل الافتراضي، تبادل الملفات.

The culture of applying internet in academic and scientific research: Al- Taref University as a model

Saci Sufiane

Dept. of Sociology / Al- Taref University/ Algeria

ABSTRACT

The Study For Research On How To Use The Internet In Scientific Research And Academic Researchers The University Of Chadli Bendjedid- El Tarf / Algeria, Otherwise Big Showing The Role Who Become Lucky In Him Net Of The Internet In The Scientific Research Through What His Progress From Numerous Services For Research In Domain Their Specialization, And Sample Was Formed Studious From (112) Professor And Research Student In The High Studies Distributed On Sections And Colleges, And Gathering Of The Statements Through The Use Of The Observation Are Complete, And The Questionnaire Who Phrase Forms The Questionnaire (35) The Words On Method Was Complete Her Likert In Measure Parts Are Formed The Questionnaire (05) , And Application Method Of The Interior Consistency For Distances Of The Measure Is Complete To Measuring Extension Believed Him, And The Sixteen Releasing Already Use At That Program (Spss 16)

Study Has To, Inter Alia, Results, The Most Important Of The Researchers Are The Recruitment Of The Internet In The Drafting Of Chapters And Research On The Latest Developments Of The Research, Experiments And Tests Linked To The Study And That They Do So Using Search Engines And Participation In Meetings And Seminars And Networking With Specialists, And There Are Several Obstacles Preventing Them From Using The Internet In Their Researches Ranging Between Personal Difficulties And Seminars

The Study Of The Reached A Set Of Recommendations, Including The Need To Stimulate The Researchers To Undergo Training In The Use Of The Internet, And The Areas Of The University Of Eltarf Researchers.

المقدمة

في الاستفادة من خدمات الشبكة الرقمية المتكاملة (Integrated Digital Network).

تقدم الانترنت اليوم قدرا عظيما من البيانات والخدمات، ربما كان أكثرها شيوعا اليوم صفحات النصوص الفائقة المنشورة على الويب، كما أنها تحمل خدمات وتطبيقات أخرى مثل: البريد الإلكتروني، خدمات التخاطب الفوري، برتوكولات نقل الملفات، التواصل الميدياويكي وغيرها.

3- الجامعة : يشير في اللغة العربية إلى "مجموعة المعاهد العلمية التي تسمى كليات، يتم فيها تدريس الآداب والفنون والعلوم، بعد مرحلة الدراسة الثانوية" (6)، ونجد التعريف نفسه في اللغة الفرنسية، إذ تعني كلمة جامعة " (Université) مجموعة مدارس من مجموعة معاهد أو كليات، تتولى مهمة التعليم العالي" (7)، أما من اصطلاحا فقد اختلفت كثير من الآراء حول تحديد مفهوم "الجامعة"، تحديدا دقيقا، إذ يعرفها مراد بن أشنوه على أنها مؤسسة أوجدها أفراد لتحقيق أهداف ملموسة تتعلق بالمجتمع الذي ينتمون إليه، ويؤسس كل مجتمع جامعتة، انطلاقا من مشكلاته الخاصة وتطلعاته واتجاهاته السياسية، الاقتصادية والاجتماعية، ومن ثم تصبح الجامعة مؤسسة تكوين لا تحدد أهدافها واتجاهاتها من جانب واحد ومن داخل جهازها، بل تتلقى هذه الأهداف من المجتمع الذي تقوم على أسسه ويعطيها هو وحده، حياة ومعنى ووجودا (8). إذن، وجدت الجامعة كمؤسسة أكاديمية بهدف وحاجة إنسانية لتحقيق أهداف اجتماعية محددة وقد أوجدها المجتمع لتكون في خدمته.

ومن خلال التعريفات السابقة الذكر، يمكننا أن نستخلص تعريفا إجماليا عن الجامعة مؤداه، أن الجامعة مؤسسة أكاديمية اجتماعية، تكوينية تعليمية أوجدها المجتمع، تؤثر وتتأثر بالمحيط المجتمعي، وهي تقوم بوظائف حيوية، أبرزها وأوضحها البحث العلمي "الذي تنجزه في جميع الاختصاصات والميادين الاقتصادية، الاجتماعية، الثقافية والتربوية، الذي تستفيد منه المؤسسات الاجتماعية المحيطة بها، وهي إذ تؤدي ذلك الدور، إنما تستجيب لمتطلبات وشروط التنمية المحلية والقومية، بمختلف صورها لتدفع سيرورة التقدم والرفق إلى الأمام، وتكمن أهمية الجامعة الجزائرية، من خلال إسهاماتها في تقديم حلول للاختلالات التي تعترض السبيل الحسن للمؤسسات الاجتماعية الأخرى، من خلال نتائج البحوث والدراسات العلمية التي تنجز بشكل فردي أو جماعي على مستوى المخابر وفرق البحث.

الطرق والخدمات التي تقدمها الانترنت في مجال البحث العلمي الأكاديمي

توصلت بعض الدراسات والبحوث، إلى أن الانترنت لا يمكن الاستغناء عنها مع الطفرة المعرفية والرقمية، والتي يمكن من خلال تسهيل سبل البحث العلمي عبر ما تقدمه من خدمات البحث والنشر العلمي، والتي يمكن تناولها بالتفصيل على النحو الآتي:

1- قواعد البيانات (Data Bases): على الرغم من تعدد أساليب تخزين المعلومات والبيانات مثل: الكتب، المراجع الرقمية، الأدلة، القواميس والأطالس والتي تلعب دورا هاما في تنظيم وعرض البيانات والمعلومات، إلا أن قواعد البيانات تعد أهم هذه الأساليب وأكثرها قدرة ومناسبة على مواجهة الانفجار المعرفي الذي يشهده هذا العصر.

2- المصادر المرجعية الرقمية والإلكترونية: تعد المصادر المرجعية أحد أهم تطبيقات واستخدامات تكنولوجيا المعلومات في النظم البحثية بشكل عام والمقررات الجامعية بشكل خاص، حيث تحتوي على كم هائل ومتنوع من البيانات والمعلومات المتخصصة التي يحتاج إليها الباحثين والطلاب والأساتذة كثيرا في تعويض عدم القدرة على المراجع الورقية أو قلة أو غلظها، ومن أهمها الآتي:

أ- **الدوريات والمجلات الإلكترونية :** تتوفر على الإنترنت مئات الدوريات من المجالات العلمية الإلكترونية في مواضيع متعددة، وتشبه هذه الدوريات نظيراتها الورقية من حيث انتظام الصدور وحيث التحرير، والمراجعة، كما أنها تقوم بنشر بحوث أصلية على غرار الدوريات الورقية .

إن عدد الدوريات على الإنترنت يتزايد بشكل كبير بحيث أصبحت بعض هذه الدوريات لا تتوافر إلا بالشكل الإلكتروني، ومن جانب الباحث فإنه يستطيع قراءة ما يشاء من الدوريات الإلكترونية المتاحة على الإنترنت، وفي بعض الأحيان تكون مجانية وفي أحيان أخرى

جمعت شبكة الانترنت حولها مئات الملايين من المستخدمين في وقت وجيز، وتزايد الإقبال عليها في بداية القرن الحادي والعشرين، ويرجع هذا إلى التفاعلية الكبيرة التي تقدمها الشبكة والبيانات الهائلة التي توفرها وسبل التواصل التي تقدمها لمستخدميها، هذا الإقبال المتزايد للمستخدمين لم يستثنى منه فئة العلماء والباحثين الذين وجدوا ضالته في شبكة الانترنت جراء الفرص التي تمنحها لهم في مجال الاتصال المباشر وتبادل الأفكار والمعلومات في ما بينهم وخدمات أخرى متعددة.

يلحظ المتتبع للادبيات ذات العلاقة بالموضوع، أن الجزائر في مجالات الانترنت عرفت تأخرا مقارنة مع دول عربية أخرى، وربما يعود ذلك إلى عدة أسباب ثقافية، اقتصادية وتكنولوجية، لهذا قام الباحث بدراسة عملية توظيف الانترنت في البحث العلمي الأكاديمي من منظور أكثر تحديدا ألا وهو الجانب الثقافي في المشكلة، وهو منظور يمكن أن يساهم في تطوير رؤية أكثر شمولاً ووضوحاً لهذه العملية، لقد تمحورت مشكلة الدراسة حول الأسئلة التالية :

- 1/ ما هي جوانب توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها ؟
 - 2/ كيف يستفيد الباحثين من الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها؟
 - 3/ ما هي العراقيل التي تحول دون استفادة الباحثين من توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها؟
- وتهدف الدراسة إلى البحث في واقع ثقافة استخدام وتوظيف الأساتذة والطلبة الباحثين في الدراسات العليا لشبكة الانترنت في بحوثهم العلمية الأكاديمية، والتعرف على الأساليب، الطرق التي يتبعونها وكذلك العراقيل التي يواجهها من خلال دراسة استقصائية بعيدا عن الأحكام الانطباعية المسبقة.

مفاهيم الدراسة

1- البحث العلمي الأكاديمي: هو أحد أنواع البحث العلمي الذي يتم في إطاره الأكاديمي (الجامعي ومراكز ومخابر البحوث) فلقد وردت لدى الباحثين في أصول البحث العلمي ومناهجه تعريفات تتشابه فيما بينها برغم اختلاف الاتجاهات الفكرية والثقافية لأصحابها وبرغم اختلاف لغاتهم وتوجهاتهم، منها: في مفهوم وتني (Whitney) هو "استقصاء دقيق يهدف إلى اكتشاف حقائق وقواعد عامة يمكن التحقق منها مستقبلا" (1)، أو أنه "استقصاء منظم يهدف إلى إضافة معارف يمكن توصيلها والتحقق من صحتها باختبارها علميا" (2). أما هيل واي (Hillway) فيرى أنه يعد "وسيلة للدراسة يمكن بواسطتها الوصول إلى حل مشكلة محددة وذلك عن طريق التقصي الشامل والدقيق لجميع الشواهد والأدلة التي يمكن التحقق منها والتي تتصل بها المشكلة المحددة" (3)، وعرف ماكميلان وشوماخر (Macmillan- Schumache) البحث العلمي بأنه "عملية منظمة لجمع البيانات أو المعلومات وتحليلها لغرض معين " (3). فيما يعرفه توكمان (B. Tuchman) بأنه "محاولة منظمة للوصول إلى إجابات أو حلول للأسئلة أو المشكلات التي تواجه الأفراد أو الجماعات في مواقعهم ومناحي حياتهم" (4).

وفي ضوء هذه التعريفات يمكن الخروج بمفهوم عن البحث العلمي الأكاديمي بأنه وسيلة يحاول بواسطتها الباحث الأكاديمي دراسة ظاهرة أو مشكلة ما والتعرف على عواملها المؤثرة في ظهورها أو في حدوثها للتوصل إلى نتائج تفسر ذلك، أو للوصول إلى حل أو علاج لذلك الإشكال، فإذا كانت المشكلة أو الظاهرة مشكلة اجتماعية أو ثقافية سمي بالبحث الاجتماعي ويتم في إحدى المؤسسات الأكاديمية ويقوم به أساتذة أو طلبة باحثين في التخصص المرتبط بالظاهرة المدروسة.

2- شبكة الانترنت: تعني لغويا ترابط بين الشبكات، وبعبارة أخرى: شبكة الشبكات، والمصطلح هو اختصار لتعبير (International Network)، أي أنها الشبكة التي تضم الحواسيب المرتبطة حول العالم، والتي تقوم بتبادل البيانات فيما بينها بواسطة تبديل الحزم بإتباع بروتوكول الإنترنت الموحد (TCP/IP) (5)، وهي أبرز ثمرة نتجت عن تلاحم ثلاث ثورات كونية: ثورة المعلومات، ثورة الاتصالات، وثورة الحواسيب، كما أنها تمثل أبرز النماذج العالمية

التي تتيح للأفراد والجماعات التواصل فيما بينهم عبر هذا الفضاء الافتراضي (11).

إلا أنه يمكننا القول أن هذه التعريفات وغيرها تجمع في أن شبكات التواصل الاجتماعي عبارة عن مواقع ويب (WEB2) تقدم مجموعة من الخدمات للمستخدمين، مثل: المحادثة الفورية، الرسائل الخاصة، البريد الإلكتروني، التدوين ومشاركة الملفات وغيرها من الخدمات، ومن الواضح أنها أحدثت تغيير كبير في كيفية الاتصال، التواصل والمشاركة بين الأفراد وكذلك بين المجتمعات، فهي استطاعت في خلال فترة قصيرة من ظهورها في جمع أكثر من (20) مليار مستخدم في الوقت الحالي (نهاية سنة 2015) وتنقسم تلك الشبكات حسب الأغراض فهناك شبكات تجمع أصدقاء الدراسة وأخرى تجمع أصدقاء العمل بالإضافة لشبكات التدوينات المصغرة، ومن أشهرها نجد الفيسبوك (Facebook) والتويتر (Twitter) وغيرها.

6- المواقع والمنديات العلمية (Web & Forum): هي مواقع على الإنترنت يلتقي فيها المستخدمون من ذوي الاهتمامات أو الاختصاصات المشتركة ليتبادلوا الأفكار والنقاش في مواضيع بحثية وعلمية عن طريق إنشاء موضوع من قبل أحد أعضاء المنتدى، ومن ثم يقوم باقي الأعضاء بعمل مشاركات وردود داخل الموضوع للنقاش مع صاحب الموضوع سواء بالإضافة، النقد، التقييم، طرح أفكار مماثلة أو داعمة للوجهات النظر، والمنديات العلمية المتخصصة ما هي إلا تطوير لتقنية (User Net)، وعرفت المنديات العلمية انتشارا واسعا في السنوات الأخيرة.

وتنقسم المنديات العلمية إلى نوعين فهناك المنديات المتخصصة في نوع معين مثل المقالات أو المشاركات أو التجارب العلمية وذلك حسب الاختصاص العلمي أو الاهتمام الفكري أو التوجه المعرفي مثل: منديات الجامعات الحكومية، الكليات، الأقسام، الطلبة أو الأساتذة، وهناك المنديات العلمية التي لا تختص بموضوع أو توجه محدد وتقدم مواضيع في مجالات شتى، وتوجد منديات تقبل المشاركة دون التسجيل فيها أخرى تشترط العضوية، ويوجد منديات خاصة، حيث لا يمكن أن يسجل فيها غير أشخاص معينين منتمين إلى جامعة أو مخبر أو مجموعة بحثية وأخرى تفتح المجال لكل مستخدم للانترنت للتسجيل والاستفادة منها.

7- خدمة تبادل الملفات والأرشيف الإلكتروني: نظرا لوجود العديد من الملفات المتاحة للباحثين عبر الانترنت، فإن خدمتي تبادل الملفات والأرشيف الإلكتروني للهيئات والمؤسسات البحثية وكذلك للمواقع تساعد الباحثين للوصول إلى "الملفات التي يريدونها فإن خدمة الأرشيف تحدد الموقع الذي يحتوي على هذا الملف وعند التواصل مع الموقع الذي يتواجد فيه الملف يمكن استخدام خدمة (FTP) لتحميل الملف (12).

8- البريد الإلكتروني (Email): حيث يستطيع مستخدم الانترنت إرسال واستقبال الرسائل الكترونيا من وإلى أي شخص آخر متصل بالانترنت، وليست الرسائل الشخصية فقط ولكن كل الأنواع الموجودة من الملفات (الصوتية، المرئية، الأرشيف، الكتب والمجلات الإلكترونية وغيرها) في ثواني قليلة وتعتبر هذه أهم مزاياه، كما أنه أقل تكلفة مقارنة بوسائل الاتصال الكلاسيكية، كما أنه يحافظ على البريد الإلكتروني الصادر والوارد لمستخدمه مهما طالت الفترة، وكذلك هو سري حيث أنه محمي من الاختراقات عبر كلمة السر ومضاد الفيروسات.

يمثل نظام البريد الإلكتروني العمود الفقري والدافع الأساسي لإنشاء الانترنت (12).

يدفع فقط تكاليف ما يقرأ وهذا بعكس الدورية الورقية حيث أنه يدفع قيمتها كاملة سواء قرأ جزءا منها أو كلها وفي هذا توفير له في الكلفة.

ب- الموسوعات الإلكترونية: يقصد بها كتاب أو مجموعة كتب إلكترونية تحتوي على كم هائل من البيانات والمعلومات المرئية والمرتبطة أبديا وتدور حول المعرفة الإنسانية بشكل عام أو جزء خاص منها (9).

ت- تقنيات التواصل السمي/ البصري: من أشهرها تقنية الفيديو كونفرنس (Videoconference) التي تعد إحدى تقنيات الاتصال من بعد في البحث العلمي والتدريس الجامعي، وذلك لقدرتها على توفير العديد من فرص التواصل الصوتي- المرئي بين الباحثين، الأساتذة والطلبة في أماكن تواجدهم، كما استطاع الأساتذة عبر مسافات بعيدة أن يشرّفوا على طلابهم أو تقديم محاضرات ومتابعة انجاز البحوث عن بعد.

ث- محركات البحث: محرك البحث هو موقع على شبكة الانترنت مزود بقاعدة بيانات تحتوي على عناوين ومواقع متنوعة، ويوجد نوعان رئيسيين منها:

- نوع عام: يقوم بالبحث في الانترنت من خلال أكثر من موقع في آن واحد مستخدم الكلمات الدالة وبعض الرموز، الاختصارات والتحديثات التي يقدمها المستخدم.

- نوع متخصص: يقوم بنفس العملية التي يقوم بها الصنف الأول لكن في حدود ميزة أو اختصاص مثل: محرك بحث في مواقع إخبارية، ثقافية، علمية، اقتصادية، الأفلام وغيرها.

ويوجد العديد من محركات البحث على الانترنت كل منها يختلف عن الآخر من حيث طريقة البحث والوظيفة التي يقوم بها والمواقع التي يستطيع الوصول إليها وطبيعتها، نجد مثلا على سبيل التسمية لا الحصر، أشهرها: فوجل (Google)، ياهو (Yahoo) (Altavista) وأين (Ayna) بوابة العرب (Arabvista).

3- المكتبات الرقمية: إن أبرز ما يحتاجه الباحث العلمي من المكتبة هي المراجع والمصادر المتوفرة في اختصاصه، فينطلق لبحث في فهرسها، وفي هذا المجال توفر الإنترنت ومن خلال الواب تسهيلات الوصول إلى عدد كبير من فهراس المكتبات في العالم مثل: مكتبة الكونجرس الأمريكية، المكتبة البريطانية، مكتبة جامعة شيكاغو ومكتبة جامعة كاليفورنيا، ويذكر أن هناك حوالي 1000 موقع لفهراس المكتبات الوطنية والجامعية المشهورة في العالم، ويمكن لأي شخص له إلمام باستخدام الحاسوب إجراء البحوث في هذه الفهارس.

4- الخدمات المرجعية: هي عبارة عن مساعدة المستفيد في الحصول على معطيات، معلومات أو بيانات معينة، أما المدى الذي تشملته هذه الخدمات فيتراوح بين الرد على الاستفسارات إلى تزويد المستفيد بقائمة ببليوغرافية عن موضوع معين، وللبحث عن معلومة أو معلومات مرجعية يمكن الاستفادة مما توفره الويب حيث يستطيع المستفيد أن يجد معلومات تقريبا عن أي موضوع علمي، يقوم المستفيد بطبع الكلمات المفتاحية باستخدام إحدى آليات البحث مثل: (Infoseek, Excite, Lycos) أو أحد الأدلة مثل: (Yahoo, Magellan) حيث إن كل واحدة من هذه الآليات والأدلة تحتوي على مواضيعها الخاصة، كما يمكن استخدام البريد الإلكتروني للإجابة عن الاستفسارات وذلك بإرسال رسالة إلى جهة معينة أو شخص معين وطرح السؤال ثم تلقي الإجابة بالطريقة نفسها، ومثال على قواعد البيانات التي توفر خدمات مرجعية على الانترنت تشير إلى قاعدة (Higher Education Resources And Opportunities) التي توفر معلومات حول الجامعات، المؤتمرات، شروط القبول، المنح، والزمالات التي طالما يحتاجها الباحثين، كما أن هناك قاعدة (Geography Server) التي توفر معلومات، بالإضافة إلى آلاف الهيئات والمؤسسات العلمية والجامعية المستعدة للإجابة عن الأسئلة وإعطاء المعلومات حول موضوعات متعددة في العلوم والتكنولوجيا والعلوم الاجتماعية مثل: (The National Referral Central Master File).

5- شبكات التواصل الاجتماعي (Social Media): هنالك العديد من التعريفات التي حاولت تحديد مفهوم شبكات التواصل الاجتماعي نجد من عرفها على أنها شبكات اجتماعية تفاعلية تتيح التواصل لمستخدميها في أي وقت يشاءون وفي أي مكان من العالم، ظهرت على شبكة الانترنت منذ سنوات وتمكنهم أيضا من التواصل المرئي والصوتي وتبادل الصور وغيرها من الإمكانيات التي توطد العلاقة الاجتماعية بينهم (10)، أو هي "مواقع إلكترونية اجتماعية على الانترنت وتعتبر الركيزة الأساسية للإعلام الجديد أو البديل،

الفوائد من توظيف الانترنت في البحث العلمي الأكاديمي

إن العلاقة بين البحث العلمي والانترنت علاقة وطيدة ومتبادلة لا يمكن شرحا وتحديدتها في ضيق أسطر، لذا قمنا بتحديد بعض الفوائد التي تقدمها شبكة الانترنت للبحث العلمي الأكاديمي:

- تقليص الوقت: فالانترنت جعلت كل الأماكن - افتراضيا - تقبل الوصول إليها، ما سمي بالزمن المديتيكي.
- تقليص الحدود المكانية: تنتج وسائل التخزين التي تستوعب حجما هائلا من المعلومات المخزنة والتي يمكن الوصول إليها بسهولة، تجاوز المكان الواقعي إلى المكان الافتراضي.
- النممنة: بمعنى آخر، أسرع، أرخص، وتلك هي وتيرة تطور منتجات تكنولوجيا المعلومات (13).
- الذكاء الاصطناعي: أهم ما يميز الانترنت هو تطوير المعرفة وتقوية فرص تكوين الباحثين من أجل الشمولية والحكم في عملية الإنتاج المعرفي.
- تكوين شبكات الاتصال البحثية: تتوحد الانترنت من أجل تشكيل شبكات الاتصال، وهذا ما يزيد من تدفق المعلومات بين الباحثين على اختلاف أماكن تواجدهم، مما يسمح بتبادل النشاطات البحثية، الأفكار والمعلومات.
- التفاعلية: أي أن المستخدم يمكن أن يكون مستقبل ومرسل في نفس الوقت، فالمشاركين في عملية الاتصال يستطيعون تبادل الأدوار وهو ما يسمح بخلق نوع من التفاعل بين الباحثين،
- اللاتزامنية: وتعني إمكانية استقبال الرسالة في أي وقت يناسب المستخدم، فالمشاركين غير مطالبين باستخدام النظام في نفس الوقت.

- اللامركزية: وهي خاصية تسمح باستقلالية الانترنت، مثلا تتمتع باستمرارية عملها في كل الأحوال، فلا يمكن لأي جهة أن تعطلها، أو ترافق محتواها بشكل كلي.
- قابلية التوصل: وتعني إمكانية الربط بين الأجهزة الاتصالية المتنوعة الصنع، مثل أجهزة الكمبيوتر، الهواتف والألواح الذكية وغيرها، بغض النظر عن الشركة أو البلد الذي تم فيه الصنع.
- قابلية التحرك والحركة: أي أنه يمكن للباحث أن يستفيد من خدماتها أثناء تنقلاته، من أي مكان عن طريق وسائل اتصال كثيرة مثل الكمبيوتر المحمول، الهاتف النقال، وغيرها وشبكات الجيل الثالث والرابع.

- قابلية التحويل: وهي إمكانية نقل المعلومات من وسيط إلى آخر، مثل: تحويل الرسالة المسموعة إلى رسالة مطبوعة أو مقروءة مع إمكانية التحكم في نظام الاتصال (14-16).
- الشبوع والانتشار: وهو قابلية هذه الشبكة للتوسع لتشمل أكثر فأكثر مساحات غير محدودة من العالم بحيث تكتسب قوتها من هذا الانتشار المنهجي لمنطها المرن.
- العالمية: هو المحيط الذي تنشط فيه الانترنت، حيث تأخذ المعلومات مسارات مختلفة ومعقدة تنتشر عبر مختلف مناطق العالم، وهي تسمح لرأس المال المعرفي بأن يتدفق إلكترونيا (افتراضيا) خاصة بالنظر إلى سهولة نقل المعلومة فيسمح لها بتخطي عائق المكان والانتقال عبر الحدود الدولية (17-19).

طرق الدراسة

مجالات الدراسة

لقد بدأ التحضير إلى الدراسة الميدانية في أواخر شهر جانفي 2015، وبعد تحديد مجتمع الدراسة المتمثل في طلبة الدراسات العليا، الطور الثالث والأساتذة الباحثين في جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف في الجزائر، والذي بلغ عددهم حسب الإحصائيات الرسمية آنذاك (112) أستاذ وطالب باحث في الدراسات العليا موزعين على أقسام وكليات الجامعة، حيث تم تحضير العدد اللازم من الاستمارات (112) استبانة وتوزيعها على المجتمع الكلي للدراسة واختيار عينة قصدية.

منهج الدراسة

تبني الباحث المنهج الوصفي، وهذا الوصف إما كفيًا، بتوضيح خصائص الظاهرة، وذلك من خلال وصفها، أو رقميًا، بتوضيح مقدار هذه الظاهرة أو حجمها أو درجة ارتباطها مع الظواهر المختلفة الأخرى، ويعتبر استخدام المنهج الوصفي - في هذه الدراسة، أنجح المناهج للوصول إلى الأهداف التي وضعها الباحث، بدءا بوصف عملية البحث العلمي الجامعي وجمع الحقائق حولها، ثم محاولة تحليلها وتفسيرها، وإيجاد أوجه الترابط، والعلاقات بينها وبين استخدام الانترنت من طرف الباحثين، وربط الجانب الميداني بالإطار النظري للدراسة، وانتهاء باستخلاص النتائج التي يمكن تعميمها.

الاستبيان

تم وضع الاستبانة لتشمل (35 عبارة) موزعة على (3 محاور، وتم توزيعها على عينة الدراسة (112) مبحوث، لتكون الدراسة ذات صيغة مسح شامل (المجتمع الكلي للبحث)، وتم توزيع الاستمارات بداية من 25 ابريل 2015، واستغرقت مدة توزيع وجمع الاستمارات 20 يوما، وقد تم بعد ذلك تفريغ البيانات، وتبويبها في جداول إحصائية، وكتابة أهم الملاحظات المستقاة من الميدان، وفي سبتمبر 2015 تم كتابة وتنظيم الجداول وتحليلها.

أداة القياس

اتبع الباحث في بناء مقياسه على طريقة ليكرت (Likert Scale) في بناء الاختبارات والمقاييس، لكونها من أشهر وأكثر الطرائق شيوعا واستخداما، وكذلك لأنها تتميز بالوضوح والسهولة ولا تتطلب الوقت والجهد الكثير، وأعطى الباحث خمسة بدائل للاستجابة لكل عبارة من عبارات المقياس (أوافق بشدة، أوافق، لا أدري، أعارض، أعارض بشدة)، وأعطيت الدرجات متدرجة حسب الموافقة الشديدة أو الرفض، تبدأ من (5) للموافق بشدة وتنتهي بـ (1) لعدم الموافقة المطلقة، وقد تم استخدام برنامج التحليل الإحصائي (SPSS) الإصدار السادس عشر في التعامل مع المعطيات الميدانية.

صدق المقياس وثباته

أعد المقياس في صورته الأولية مكونا من (39) عبارة موزعة على مجالات الدراسة، وتم عرضها على أربعة المحكمين، وبعد تبين ضعف ارتباط (4 عبارات) بموضوع البحث تم حذفها، وبذلك أصبح عدد عبارات المقياس (35) عبارات، ثم طبق الباحث طريقة الاتساق الداخلي لأبعاد المقياس، وكانت معاملات ارتباط بيرسون (Coefficients De Corrélation De Pearson) دالة إحصائيا، مما يشير إلى صدق المقياس لما أعد له (جدول رقم 1)، الذي يوضح استخدام الباحث لمعامل كرونباخ ألفا للتأكد من ثبات المقياس، أن معاملات كرونباخ (Coefficient Alpha De Cronbach) المتحصل عليها تتراوح ما بين (0.74) و(0.93) وأن معامل الثبات ككل (0.94) في المجموع الكلي للعبارات مما يدل على أن الأداة تتميز بمستوى من الثبات عالي، ويؤكد أن الاستبانة تتمتع بدرجة ثبات مناسبة للموضوع المدروس، ويمكن الاعتماد عليها في قياس الظاهرة.

جدول رقم (1): معاملات صدق الاتساق الداخلي لأبعاد المقياس وثباته

المجالات	العبارات	معامل ارتباط بيرسون	معامل كرونباخ ألفا
المجال الأول	صياغة فصول ومحتويات الدراسة.	0.83	0.86
	المستجدات من البحوث، التجارب والاختبارات.	0.84	0.74
	المعطيات الإحصاءات والبيانات الرقمية.	0.81	0.76
المجال الثاني	التصفح وزيارة المواقع العلمية والمعرفية المختصة للبحث عن المعلومات من أهم السبل التي استخدمها في الاستفادة من خدمة الانترنت.	0.79	0.80
	التخاطب مع المختصين من أساتذة وباحثين عبر مواقع التواصل الاجتماعي.	0.85	0.80
	المشاركة في المنتديات والنوادي.	0.87	0.84
المجال الثالث	ضعف مستواك في البحث في المواقع واستخدام الانترنت .	0.92	0.90
	عدم تمكنك من اللغات الأجنبية .	0.90	0.89
	عدم قناعتك بأهمية الانترنت في البحث العلمي .	0.85	0.84
	عدم وجود مواقع متخصصة في مجال بحثك .	0.87	0.90
	المجموع الكلي للعبارات	0.94	0.93

النتائج والمناقشة

الإجابة عن السؤال الأول: والذي نصه " ما مدى استفادة الباحثين في جامعة الطارف من الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها؟ ". حيث يوضح الجدول رقم (2) إجابات عينة الدراسة عن هذا السؤال.

يتضح من الجدول رقم (2) أن جوانب توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية يتم ترتيبها وفقا لقيم المتوسط الحسابي لإجابات الباحثين على الشكل التالي:

في المرتبة الأولى تأتي عبارة "صياغة فصول ومحتويات الدراسة" بمتوسط حسابي (4.92) ثم "معرفة والإطلاع على المستجدات من البحوث، التجارب والاختبارات" (4.91) و"الحصول المعطيات الإحصاءات والبيانات الرقمية" (4.12) "الدراسات السابقة والأنية في الموضوع" (4.10) "الكتب والمصادر الالكترونية" (4.05) "الكتابة الشكلية للبحث" (4.02)، وتحتل عبارة "معرفة بإجراء التحليل الإحصائي المناسب" أهمية خاصة لدى الباحثين بتخصصاتهم المختلفة وذلك لأن العمليات الإحصائية تتعامل مع

العلوم الإنسانية والاجتماعية والطبيعية على حد سواء، ويلجأ بعض الأساتذة والباحثين لحل مثل هذه المشكلات إلى المتخصصين في الإحصاء وأحيانا إلى مكاتب مختصة من خارج الجامعة مقابل مبلغ من المال يدفعه الباحث في سبيل المعالجة الإحصائية للبيانات التي حصل عليها لوصفها وتفسيرها.

كما يلاحظ أن العبارات التي أرقامها (08، 09، 10، 11، 12، 14، 15، 16، 17، ...) حصلت على متوسط حسابي ضعيف مما يجعلها لا تشكل مركز اهتمام لدى الباحثين، ذلك أثناء عملية انجاز البحوث العلمية، ومعظم هذه العبارات تتعلق بعمليات البناء المنهجي والنظري للدراسة، وبالرغم من أن لكل علم أو تخصص معرفي منها خصوصية في التعامل مع الظواهر المختلفة وما يرتبط بها من متغيرات، إلا أن هذه الأساليب تساعد في صياغة واختبار الفرضيات البحثية، والوصول إلى تنبؤات عن اتجاه الظواهر وما سيحصل من تغير لها مستقبلا إضافة إلى تحليل البيانات بغرض الوصول إلى نتائج تساعد في اتخاذ القرارات.

جدول رقم (2): إجابات الباحثين عن جوانب توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها

الرقم	العبارة	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
01	صياغة فصول ومحتويات الدراسة.	4.92	1.16
02	المستجدات من البحوث، التجارب والاختبارات.	4.91	1.07
03	المعطيات الإحصاءات والبيانات الرقمية.	4.12	1.19
04	الدراسات السابقة والأنية في الموضوع.	4.10	1.12
05	الكتب والمصادر الالكترونية.	4.05	1.22
06	الانتقال من العام في تحديد المشكلة إلى جعلها أكثر دقة وتحديدا.	1.90	1.17
07	الكتابة الشكلية للبحث.	4.02	1.24
08	تشخيص المشكلة البحثية.	1.92	1.41
09	نشر نتائج البحث على الانترنت.	1.93	1.24
10	معرفة بطريقة إعداد أدوات جمع البيانات المناسبة.	1.96	1.25
11	تحديد عناصر المشكلة وخصائصها وأسباب حصولها.	1.98	1.31
12	صياغة الفرضيات البحثية.	2.00	1.31
13	القدرة على تفسير النتائج.	3.01	1.24
14	معرفة طرق ضبط المتغيرات التي تؤثر في التجربة.	2.30	1.21
15	البناء المنهجي والنظري للبحث.	2.39	1.12
16	معرفة التصاميم البحثية الملائمة للدراسة.	1.07	1.25
17	معرفة بإجراء التحليل الإحصائي المناسب.	3.96	1.31

التوجه نحو البحث في الانترنت بشكل علمي ودقيق، ثم عبارة "أقوم بالالتحاق بدورات متخصصة في مجال استخدام شبكة الانترنت من أجل تطوير مهاراتي في البحث العلمي الأكاديمي" (3.96) و عبارة "الاشتراك في المجموعات البحثية والانضمام إلى المدونات المختصة" (3.65).

هذه العبارات التي تحصلت على متوسط حسابي عالي القيمة تؤكد رأي الخبراء في أن الانترنت من أهم الوسائل المساعدة على البحث العلمي، ذلك بما توفره من أنظمة معلوماتية متجددة وما تنتجه من بيانات، معلومات ومعطيات جادة وحديثة على شبكتها مع كل ما يستلزمه الأمر من أدوات، برامج، موجهات وفرص للقيام باتصالات سريعة وأنيقة والولوج إلى قواعد البيانات للجامعات والهيئات الرسمية.

أما العبارات رقم (18، 29، 26، 25، 32، 30، 31، 27) تحصلت على متوسط حسابي منخفض وهذا ما يمكن تحليله بشكل دقيق من خلال الحديث عن المجال الثالث ألا وهو العراقل التي تواجه الباحثين في هذا المجال في الجامعة محل الدراسة، حيث يرى الخبراء ويؤكد المختصون أن البحث العلمي لم يبلغ مستواه الحالي في الدول المتقدمة مثل أوروبا والومأ لولا توظيف شبكة الانترنت في كافة المجالات العلمية، وهذا ما تنقده الدول العربية، والجزائر إحدى هذه الدول.

الإجابة عن السؤال الثاني: والذي نصه " كيف يستفيد الباحثين من الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها؟ " حيث يوضح الجدول رقم (3) إجابات عينة الدراسة على هذا السؤال.

يلاحظ من معطيات الجدول رقم (3) أن المبحوثين محل الدراسة يستفيدون من الانترنت من خلال العديد من المجالات، أهمها:

نجد العبارة التي حصلت على أعلى قيمة هي "استخدام محركات البحث"، وتحصلت متوسط حسابي (4.90) وبذلك تحتل المرتبة الأولى من حيث أهميتها لدى الباحثين، وتعتبر من أهم الخدمات التي تقدمها شبكة الانترنت للباحث العلمي، حيث تتيح له الحصول على المعلومة التي يريدها بسهولة وسرعة متناهية، وبذلك تأتي في مقدمة الأولويات بالنسبة له، وفي المرتبة الثانية تأتي عبارة "المشاركة في المنتديات والندوات" (4.56) لما لها من أهمية كذلك، فهي وسيلة كبيرة لسقل وتطوير وإثراء الخبرة العلمية في مجال التخصص، كما أنها جسر افتراضي تفاعلي للتواصل مع المتخصصين والباحثين، وهي أيضا مصدر من مصادر العثور على الأبحاث والمطبوعات والكتب العلمية الحديثة، أضف إلى ذلك أنها وسيلة للتعريف بالمنتديات والندوات التي تقدم فيها البحوث العلمية المنجزة، وفي المرتبة الثالثة يأتي "التخاطب مع المختصين" (4.52) والمهتمين بموضوع الدراسة من أجل تبادل الأفكار وذلك يثري البحث العلمي وينير الباحث لزوايا في بحثه كان يجهلها، وفي المرتبة الرابعة نجد " تصفح وزيارة المواقع العلمية والمعرفية المختصة للبحث عن المعلومات" (4.14) وهي تصب في نفس

جدول رقم (3): إجابات المبحوثين عن كيفية استفادتهم من الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها

الرقم	العبارة	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
18	استخدم المؤسسة الجامعية والمخابر المتواجدة بها من أجل الحصول على خدمة الانترنت .	2.06	1.16
19	أقوم بالالتحاق بدورات متخصصة في مجال استخدام شبكة الانترنت من أجل تطوير مهاراتي في البحث العلمي الأكاديمي.	3.96	1.07
20	التصفح وزيارة المواقع العلمية والمعرفية المختصة للبحث عن المعلومات من أهم السبل التي استخدمها في الاستفادة من خدمة الانترنت.	4.14	1.19
21	التخاطب مع المختصين من أساتذة وباحثين عبر مواقع التواصل الاجتماعي.	4.52	1.12
22	المشاركة في المنتديات والندوات .	4.56	1.22
23	استخدام البريد الإلكتروني .		1.17
24	الاشتراك في المجموعات البحثية والانضمام إلى المدونات المختصة .	3.65	1.24
25	تبادل ومشاركة الملفات .	1.03	1.41
26	البحث عن نسخ الكترونية للمراجع الورقية .	2.02	1.24
27	الحصول على معلومات تتعلق بالمنح البحثية .	1.01	1.15
28	استخدام محركات البحث .	4.90	1.14
29	استخدام مواقع التواصل الاجتماعي .	2.03	1.22
30	انضمامي إلى المنتديات المختصة بالبحث العلمي .	1.02	1.30
31	الاشتراك في القوائم الإخبارية للمؤسسات البحثية والعلمية والجامعية .	1.01	1.39
32	التأكد من المرجعية في المصادر الإلكترونية .	1.02	1.18

"عدم تمكن المبحوث من اللغات الأجنبية" متوسط حسابي (4.20)، ثم "عدم وجود مواقع متخصصة في مجال بحثه" (4.17)، و"عدم وجود قواعد بيانات تسهل عليه عملية البحث في الانترنت" (4.15) و"ضعف مستواه في البحث في المواقع" (4.14).

أما العبارات التي لاقت الموافقة نجد عبارة "عدم توفر الانترنت بشكل دائم في جامعة الطارف" (3.99)، ثم "عدم قناعة المبحوثين بأهمية الانترنت في البحث العلمي" (3.92) و"عدم وجود وعي لدى الباحثين بأهمية توظيف الانترنت في البحث العلمي" (3.89)، وهي صعوبات تترأخ ما بين الشخصية والبيئية (البيئة المحيطة بالباحث) أما العبارات التي تحصلت على قيم ضعيف من حيث المتوسط الحسابي نجد العبارة رقم (28) و(34) وهي في الغالب لا تمثل صعوبات من وجهة نظر المبحوثين.

الإجابة عن السؤال الثالث: والذي نصه " ما هي العراقل التي تحول دون استفادة الباحثين في جامعة الطارف من توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها؟ " حيث يوضح الجدول رقم (4) إجابات عينة الدراسة على هذا السؤال. من خلال الجدول رقم (4) نجد أن المتوسط الحسابي العام على عبارات المجال كله (4.08) وعند إجراء اختبار "ت" للفرق بين هذا المتوسط الحسابي والمتوسط الافتراضي تبين أن قيمة "ت" كانت دالة إحصائيا مما يؤكد أن هنالك عراقل تحول دون استخدام الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها، ونجد أن العبارات (30) و(32) و(35) و(29) حصلنا على متوسط حسابي عالي يندرج في تقدير الموافقة بشدة، وبذلك يتضح لنا أن المشاكل والصعوبات تكمن في إمكانيات وشخصية الباحث في حد ذاته ، حيث جاءت العراقل بالترتيب الآتي:

جدول رقم (4): إجابات المبحوثين عن نوعية العراقيين التي تحول دون استخدام الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها

الرقم	العبارة	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
27	عدم توفر الانترنت بشكل دائم في جامعة الطارف.	3.99	0.87
28	عدم توفر كافي على الوقت الكافي .	2.31	0.94
29	ضعف مستواك في البحث في المواقع واستخدام الانترنت .	4.14	1.03
30	عدم تمكنك من اللغات الأجنبية .	4.20	0.10
31	عدم قناعتك بأهمية الانترنت في البحث العلمي .	3.92	0.98
32	عدم وجود مواقع متخصصة في مجال بحثك .	4.17	0.97
33	عدم وجود وعي لدى الباحثين بأهمية توظيف الانترنت في البحث العلمي .	3.89	1.01
34	عدم توفر كافي على الإمكانيات المادية الكافية للحصول على الانترنت.	1.40	0.98
35	عدم وجود قواعد بيانات تسهل عليك عملية البحث في الانترنت .	4.15	0.92

الاستنتاجات

من خلال النتائج المبينة في الجداول السابقة (1-4)، يمكن استنتاج ما يلي:

1- أن جوانب توظيف الانترنت في البحوث العلمية الأكاديمية التي ينجزونها، تتمثل في:

- (1) صياغة فصول ومحتويات الدراسة.
- (2) معرفة والإطلاع على المستجدات من البحوث، التجارب والاختبارات.
- (3) الحصول على المعطيات والإحصاءات والبيانات الرقمية.
- (4) الدراسات السابقة والأدبية في الموضوع.
- (5) الكتب والمصادر الإلكترونية.
- (6) الكتابة الشكلية للبحث

2- أما عن كيفية استفادتهم من الانترنت في انجاز البحوث، فكانت كالتالي:

- (1) استخدام محرركات البحث،
- (2) المشاركة في المنتديات والنوادر،
- (3) التخاطب مع المختصين،
- (4) تصفح وزيارة المواقع العلمية والمعرفية المختصة للبحث عن المعلومات.

3- وبالنسبة للعراقيين التي تواجه الباحثين في هذا المجال، نجد:

- (1) عدم وجود مواقع متخصصة في مجال بحثك.
- (2) عدم وجود قواعد بيانات تسهل عليك عملية البحث في الانترنت.
- (3) ضعف مستواك في البحث في المواقع واستخدام الانترنت.
- (4) عدم تمكنك من اللغات الأجنبية.

التوصيات

من خلال ما توصل إليه الباحث من نتائج يوصي بما يلي:

- ضرورة إعداد قاعدة بيانات للباحثين من جامعة الطارف، تتضمن المواقع الجامعية والعلمية الوطنية والدولية ويتم تحديثها دورياً عبر الشبكة المحلية وشبكة الانترنت.
- تقديم دورات تدريبية للباحثين بالجامعة تهتم باستخدام تكنولوجيا المعلومات ووسائل وطرق البحث عبر شبكة الانترنت، وأساليب التعامل مع محرركات البحث.
- تفعيل البريد الإلكتروني الخاص بالباحثين المنتسبين إلى الجامعة، وإنشاء قوائم بريدية لهم تربط مع دوائر البحث العلمي الوطنية والعالمية حسب تخصصاتهم واهتماماتهم البحثية.
- إدراج مقياس في الدراسات العليا يهتم باستخدام شبكة الانترنت وطرق البحث على الشبكة لتدريب الباحث مستقبلاً على توظيف الانترنت في انجاز بحوثه العلمية.

المصادر

1. العمر، عبد الله. (1983). ظاهرة العلم الحديث. سلسلة عالم المعرفة، الكويت. ص 276.
2. عاقل، فاخر. (1982). أسس البحث العلمي في العلوم السلوكية. ط 2. دار العلم للملايين، بيروت، لبنان. ص 75.
3. رشوان، حسين. (1982). العلم والبحث العلمي. المكتب الجامعي الحديث، الإسكندرية، مصر. ص 4.
4. قاموس ويبستر الجديد للقرن العشرين، باللغة الانجليزية، نقلاً عن المغربي، كامل. (2002). أساليب البحث العلمي. ط 1. دار الثقافة للنشر والتوزيع، عمان، الأردن. ص 15.
5. بن عبد الله الفتوخ، عبد القادر. (1998). الانترنت للمستخدم العربي. ط 1. مكتبة العبيكان، الرياض، المملكة العربية السعودية. ص 11.
6. العايد، أحمد وآخرون. (1989). المعجم العربي الأساسي. المنظمة العربية للتربية والثقافة والعلوم، بيروت، لبنان. ص 262.
7. Petit L. (1972). Scientific research. SNF, Paris, P.: 957.
8. Benachenh M. (1980) Vers L'université Algérienne: Réflexions Sur Une Stratégie Universitaire. OPU, Algeria, P.: 3.
9. Ryd N. (2000). Fin Du Monopole Sur Le Téléphone, Inter Net Et Les Télécommunications : Le Privé Entre En Ligne, Quotidien Liberté, 2209, Mardi 10 Janvier. P.: 48.
10. السليمي، عبد الرزاق محمد. (2011). الإعلام الجديد والصحافة الإلكترونية. ط 1. دار وائل للنشر، الأردن. ص 183.
11. مصطفى صادق، عباس. (2008). الإعلام الجديد المفاهيم والوسائل والتطبيقات. دار الشروق للنشر والطباعة، القاهرة، مصر. ص 218.
12. صابات، خليل، عبد العظيم، جمال. (2001). وسائل الاتصال، نشأتها وتطورها. مكتبة الأنجلو المصرية، مصر. ص 527.
13. سيد حسنين، فهد. (2002). الانترنت شبكة المعلومات الدولية. دار هلا للنشر، القاهرة، مصر. ص 53.
14. البياتي، محمود مهدي. (2005). تحليل البيانات الإحصائية باستخدام SPSS. دار الحامد للنشر، عمان، الأردن. ص 50.
15. النجار، فايز، النجار، نبيل جمعة، الزغبى، ماجد راضي. (2008). أساليب البحث العلمي: منظور تطبيقي. دار حامد، عمان، الأردن.

16. النقيب، متولي. (2008). مهارات البحث عن المعلومات وإعداد البحوث في البيئة الرقمية. الدار المصرية اللبنانية، القاهرة، مصر.
17. القنديلجي، عامر إبراهيم. (2007). البحث العلمي واستخدام مصادر المعلومات التقليدية والإلكترونية. دار المسيرة للنشر والتوزيع، عمان ، الأردن.
18. سلمان، رشيد سلمان. (1993). أزمة البحث العلمي في الوطن العربي. مجلة شؤون عربية، العدد (75): 101-109.
19. فرجاني، نادر. (2005). التعليم في البلاد العربية. سلسلة كتب المستقبل العربي (39): التربية والتنوير في تنمية المجتمع العربي، مركز الوحدة العربية، بيروت، لبنان.

تحليل تسلسل الحامض النووي لجين *16 S r DNA* لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من إصابات الجروح

رنا مجاهد عبد الله الشويخ، عباس فالح الأرناؤوطي

قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: dr.rana_alshwaikh@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

تم الحصول على على 10 عزلات من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من حالات التهابات الجروح. أظهرت نتائج التحري عن جين *16SrDNA* في بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* وجود هذا الجين في جميع العزلات قيد الدراسة، وكان الحجم الجيني للجين 956 زوج قاعدة بعد ترجمته كهرائياً. تم تحليل التسلسل المتتابع لجين *16S rDNA* في بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*، وبينت النتائج وجود طفرات وراثية في الحامض النووي DNA للجين *16S rDNA*، حدثت هذه الطفرات في تسلسل القواعد النيتروجينية وكان أغلبها من نوع الاستبدال والحذف، وكانت نسبة التطابق 93% مع التسلسل المتتابع للجين الأصلي.

الكلمات المفتاحية: *16SrDNA Pseudomonas aeruginosa* التسلسل المتتابع لجين *16SrDNA*

DNA sequences analysis of *16 S r DNA* gene from *Pseudomonas aeruginosa* bacteria isolated from wounds infection

Rana M. A. Al- Shwaikh and Abbas F. Alornaaouti

Dept. of Biology/ College of Education for Pure Sciences (Ibn- Al- Haitham) / University of Baghdad /Republic of Iraq

ABSTRACT

Ten (10) isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were collected from wound clinical cases. The results revealed that the *16S rDNA* gene was presented in all *Pseudomonas aeruginosa* isolates. The gel electrophoresis showed that the molecular weight of *16S rDNA* gene was 956 bp. DNA sequences of *16S rDNA* gene was done, and the results showed the presence of some gene mutations like substitution and deletion with 93% identity with the Refseq gene.

المقدمة

عزل DNA

تم استعمال عدة خاصة لاستخلاص DNA من عزلات البكتيريا وحسب تعليمات الشركة المصنعة (Geneaid Biotech kit (system, UK).

الكشف عن جين 16S rDNA

تم تحضير المحلول بتركيز 10 ميكومول/ مايكروليتر (وذلك بأخذ 10 مايكروليتر من محلول البادئ الخزين Stock وإضافة 90 مايكروليتر من الماء المقطر الأيونى له) وحفظ مع المحاليل الخزينة Stock للبواى فى درجة الحرارة -20 °م ، مع مراعاة مزج محلول البادئ بعد إخراجها من الثلج باستعمال المازج Vortex (England Griffin) لمجانسته قبل الاستخدام، وباستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وبالظروف التفاعلية الموضحة في جدول رقم (1) (9).

فصلت نواتج التفاعل باستخدام الأكاروز Bio Basic INC (Canada) بتركيز 1% المحتوي على 5 مايكروليتر من صيغة Eithidium bromide Bio Basic INC (Canada) وباستعمال DNA ladder (100 زوج قاعدة، ويفرق جهد 75 فولت لمدة ساعة، وتم التصوير باستخدام UV light Optima - Japan (10).

جدول رقم (1): البادئ المستعمل في الدراسة والظروف التفاعلية المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

primer	Primer sequence 5' → 3'	Primer size (bp)	PCR condition Per 25 cycles
PA-S8-F	GCGGCCATCTTCGCAACCTCA	956	95 °C 1 min
PA-S8-R	TGCTTAGAGTGGCCACCGG		94 °C 20sec
			58 °C 25sec
			72 °C 45sec
			72 °C 1 run

تحليل تسلسل الحمض النووي لجين 16S rDNA
(Sequencing of 16S rDNA genes)

تم إرسال عينات DNA لجين 16S rDNA مع كل من Primer F , Primer R إلى شركة NICEM الأمريكية ، ثم قراءة النتائج حسب برنامج BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) المتوفر على موقع NCBI (National Center for Biotechnology Information) لتحديد عدد النيوكليوتيدات لمعرفة عدد ونوع الطفرات.

النتائج والمناقشة

تم استخلاص DNA من جميع العزلات المشخصة، ومن ثم الكشف عن وجود جين 16srDNA ، والذي يعد من الجينات التي يعتمد عليها في تشخيص البكتيريا *P. aeruginosa* باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ، وبينت نتائج الكشف عن الجين أن جميع عزلات *P. aeruginosa* تحمل هذا الجين، والذي يبلغ حجمه 956 زوج قاعدة (شكل رقم 1).

يعد جنس *Pseudomonas spp.* من الأجناس الأكثر انتشارا في البيئة، وهي من أنواع البكتيريا المعروفة وكثيرة التنوع، وتتميز هذه البكتيريا بأنها عصيات سالبة لصبغة كرام، متحركة Motile ، هوائية aerobice ، احتياجاتها الغذائية بسيطة وتمتلك العديد من الإنزيمات المعقدة التي تساعد على التمثيل الغذائي. تنتشر هذه البكتيريا في التربة والرواسب والمياه العذبة والبحرية. وتم عزلها من الأدوات الطبية والمحاليل المعقمة ومستحضرات التجميل والمنتجات الطبية، وعزلت أيضا من النباتات. وتسبب العديد من الأمراض للإنسان. ولها القدرة على البقاء حية في المياه الساخنة وحمامات السباحة. ويمكن أن تنتقل من شخص لآخر عن طريق السوائل والصابون والمطهرات. تم عزل بكتيريا *P. aeruginosa* أيضا من مياه الصرف الصحي والتربة والنباتات والحيوانات ومياه الأنهار والبحار والمياه المعدنية المعبأة (1-3). وتعد من عوامل العدوى الانتهازية opportunistic في عدوى المستشفيات، خاصة بين المرضى الذين يعانون من نقص المناعة immune compromised ، والمصابين بالسرطان cancer ومرضى AIDS. وتسبب أمراض الجهاز التنفسي والتهابات المسالك البولية ، والتهابات الجهاز الهضمي، وتجرثم الدم، والتهابات الأنسجة الرخوة والعظام والتهابات المشتركة والتهابات الحروق burns والجروح Wound والتليف الحويصلي cystic fibrosis والتهابات الجلد والطفح الجلدي rash والتهابات الجريبات folliculitis، وكذلك التهابات ملتزمة العين conjunctivitis والتهاب الأنف الخارجية otitis externa (4). وتتميز هذه البكتيريا بمقاومتها للمضادات الحيوية، وخاصة مضادات البيتا لاكتام، وذلك لقابليتها على إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز، ويمكن لهذه البكتيريا أن تكتسب مقاومة للمضادات الحيوية (5).

في عام 1980، وضعت العديد من المعايير الجديدة من أجل تشخيص البكتيريا ، ويمكن الاعتماد على جزء صغير من جينات هذه البكتيريا ومنها 23S و 16S ، وهو جزء من الحمض النووي ويطلق عليه جين 16SrRNA والذي يعد الأكثر استخداما للأغراض التصنيفية للبكتيريا، ولتشخيص الالتهابات الجرثومية. ويمكن استخدامه في تصنيف وتشخيص الكائنات الأخرى وليس فقط بين أنواع البكتيريا، ولكن أيضا استخدام جين 16SrRNA في تحديد الأنواع في الكائنات البدائية والحقيقية النواة أيضا (6). بينت الدراسات أن الجين 16SrRNA يتكون من عدة مناطق مختلفة وظيفيا، وهذه الصفات تكون محفوظة بشكل عال، ويمكن العثور على هذه التسلسلات بين مجموعة واسعة من البكتيريا، وبعض المواقع تظهر اختلافا كبيرا كما أن تسلسل الحامض النووي يكون متخصصا لنوع أو جنس محدد من البكتيريا (7). يتكون جين 16srRNA بصورة عامة من تسعة مواقع شديدة التباين V1-V9 ، والتي توضح تسلسلا كبيرا بين الأنواع البكتيرية (2).

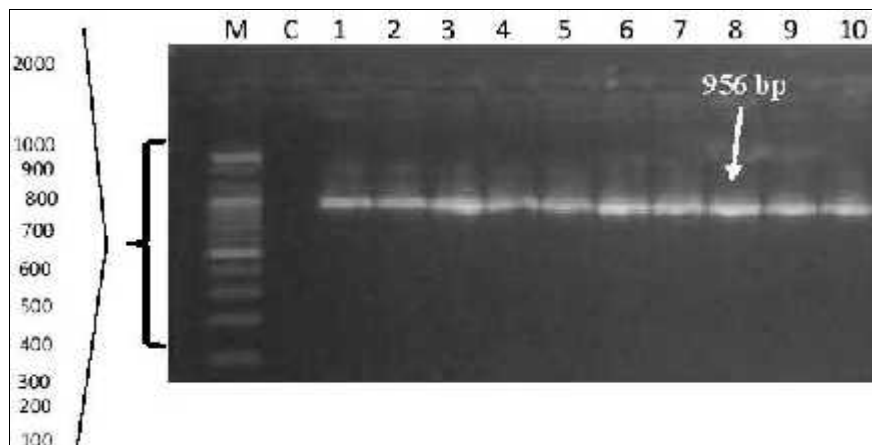
المواد وطرق العمل

عزل البكتيريا

تم الحصول على (10) عزلات من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من حالات التهابات الجروح.

تشخيص العزلات

تم تشخيص باستخدام الأوساط الزرعية MacConkey agar و Pseudomonas agar ، Blood agar ، Citrimide agar ، كما تم إجراء الفحوصات البيوكيميائية مثل Oxidase و Catalase ، ومن ثم تم التأكد من الفحوصات البكتيريولوجية باستعمال API 20 E للتشخيص النهائي (8).



شكل رقم (1): جين *16s rDNA* في عزلات *P. aeruginosa* باستعمال الاكاروز بتركيز 1% الحاوي على 5µl من صبغة Eithidium bromide وباستعمال DNA ladder (M) (100bp-2000bp) وبفرق جهد 75 فولت لمدة ساعة.

C : السيطرة : 1- 10 العزلات Marker: M

بالسايتوسين Cytosine ، واستبدال القاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine بالسايتوسين Cytosine عند المواقع 268 و 270 و 276 و 278 و 297 و 299 على التوالي عند الثمالة Sbct 267. وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine بالسايتوسين Cytosine عند الموقع 690 ، وتم حذف القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالموقع 715 وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالثايمين Thymine للموقعين 717 و 718 على التوالي. وتم حذف القاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine عند الموقعين 739 و 744 على التوالي وعند الثمالة Sbct 687 . وكانت نسبة التطابق مع الجين الأصلي في بيانات NCBI 93% كما في الشكل رقم (2).

بينت نتائج التحليل للعزلة S2-SF حصول حذف القاعدة النيتروجينية الثايمين Thymine عند الموقع 173 وحذف القاعدة الأدينين Adenine عند الموقع 191 ، واستبدال القاعدة الأدينين Adenine بالجوانين Guanine والجوانين Guanine بالأدينين Adenine عند الموقعين 203 و 210 على التوالي، وعند الثمالة Sbct 165. وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالأدينين Adenine عند الموقع 266 عند الثمالة Sbct 225. وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالأدينين Adenine عند الموقعين 309 و 342 عند الثمالة Sbct 285.

تم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالثايمين Thymine عند الموقع 371 عند الثمالة Sbct 345، وتم استبدال كل من القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالثايمين Thymine عند الموقع 413 واستبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالأدينين Adenine عند الموقع 423، واستبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالسايتوسين Cytosine عند الموقع 429 والأدينين Adenine بالسايتوسين Cytosine بالموقع 431 عند الثمالة Sbct 405. كما تم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالأدينين Adenine عند الموقع 583 عند الثمالة Sbct 525. وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بكل من القواعد السايتوسين Cytosine وبالأدينين Adenine والثايمين Thymine والسايتوسين Cytosine عند المواقع 790 و 806 و 819 و 823 على التوالي، وعند الثمالة Sbct 765.

اتفقت هذه النتائج مع نتائج دراسة (6)، التي أظهرت أن (100%) من عزلات *P. aeruginosa* التي تم تشخيصها بالطرق الاعتيادية كانت تحمل جين *16 S rDNA* مما يؤكد كفاءة طريقة PCR للكشف عن جين *16 S rDNA* في البكتيريا. وتعد هذه الطريقة من الطرق السريعة والسهلة والمفيدة والأكثر دقة، والموثوق بها لتشخيص بكتيريا *P. aeruginosa*. ويعد هذا الجين من الجينات المهمة والذي يمكن من خلاله تحديد الوراثي للبكتيريا، ويمكن تمييز الجين الخاص بالبكتيريا *P. aeruginosa* عن الأنواع الأخرى من البكتيريا *Pseudomonas spp.*، وذلك بالاعتماد على *16S rDNA* الريبوسومي للحامض النووي DNA (11)، كما بينت نتائج دراسة (12) أن 98% من عزلات بكتيريا *Pseudomonas spp.* كانت تحمل جين *16 S rDNA*.

تم تحليل تسلسل الحمض النووي لجين *16s rDNA* في بكتيريا *P. aeruginosa*، وذلك بإرسال عينات DNA لجين *16S rDNA* مع كل من Primer F , Primer R إلى شركة NICEM الأمريكية ، ومن ثم قراءة النتائج حسب برنامج BLAST (BLAST: Basic Local Alignment Search Tool) المتوفر على موقع NCBI (National Center for Biotechnology Information) لتحديد عدد النيوكليوتيدات ولمعرفة عدد ونوع الطفرات. وبالمقارنة مع العزلة *P. aeruginosa* PAO1OR, chromosome : I Sequence ID: emb [LN871187.1]، بينت النتائج حدوث طفرات وراثية في DNA لجين *16s rDNA* لبكتيريا *P. aeruginosa* المعزولة من إصابات الجروح والتي حدثت في تسلسل القواعد النيتروجينية وكانت أغلبها من نوع الاستبدال والحذف.

وقد بينت نتائج التحليل للعزلة S1-SF حصول حذف القاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine في الموقع 38، وحذف القاعدة النيتروجينية الثايمين Thymine بالموقع 45 ، وحذف القاعدة النيتروجينية السايتوسين Cytosine بالموقع 47 ، وحصل استبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالقاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine عند الموقع 57 للثمالة Sbct 28. وتم إضافة القاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine بالموقع 96 ، واستبدال القاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالقاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine في الموقع 114 عند الثمالة Sbct 88. وتم استبدال القاعدة النيتروجينية الثايمين Thymine بالقاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine عند الموقع 151 للثمالة Sbct 147. تم استبدال القاعدة النيتروجينية السايتوسين Cytosine بالثايمين Thymine بالموقع 212 عند الثمالة Sbct 207، وتم استبدال القاعدة النيتروجينية السايتوسين Cytosine بالأدينين Adenine ، والقاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالأدينين Adenine ، والقاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine بالسايتوسين Cytosine ، والقاعدة النيتروجينية الأدينين Adenine بالسايتوسين Cytosine ، والقاعدة النيتروجينية الجوانين Guanine

Adenine عند الموقع 1002 . وجميع هذه الطفرات حصلت عند الشئلة 945 Sbjct.

تم أيضا استبدال القاعدة النيروجينية الثايمين Thymine بالسايوسين Cytosine والجوانين Guanine بالسايوسين Cytosine بالموقعين 1007 و 1010 على التوالي عند الشئلة 1005 Sbjct. إضافة إلى العديد من طفرات الاستبدال للقواعد النيروجينية والموضحة في الشكل رقم (3). وكانت نسبة التطابق مع الجين الأصلي في بيانات NCBI 93 %.

وتم استبدال القاعدة النيروجينية الجوانين Guanine بالثايمين Thymine عند الموقع 961 والأدينين Adenine بالجوانين Guanine بالموقع 973 والسايوسين Cytosine بالأدينين Adenine بالموقع 974، واستبدال القاعدة النيروجينية الأدينين Adenine بالجوانين Guanine بالموقع 975 واستبدال الثايمين Thymine بالأدينين Adenine بالموقعين 991 و 994 . وتم استبدال الجوانين Guanine بالثايمين Thymine عند الموقع 997 واستبدال القاعدة النيروجينية الثايمين Thymine بالأدينين

S1_SF				
Pseudomonas aeruginosa strain HODA1989 16S ribosomal RNA gene, partial sequenceSequence ID: gb KR652741.1 				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1203 bits(651)	0.0	767/823(93%)	8/823(0%)	Plus/Plus
Query: 29	TTGGTGGGGT-AAGGCC-A-CAAGGCGACAAATCCGTAACCTGGCTCTGAGAGGATGATCAGT			65
Sbjct: 28	TTGGTGGGGTAAAGGCCCTACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGCTCTGAGAGGATGATCAGT			67
Query: 86	CACACTGGAACTGAGACACGGTCCAAACTCTCTACGGGAGGCGAGGAGTGGGGAATATTGG			145
Sbjct: 88	CACACTGG-AACTGAGACACGGTCCAGACTCTCTACGGGAGGCGAGGAGTGGGGAATATTGG			146
Query: 146	ACAAGGGGGGAAAGCCCTGATCCAGCCATGCCCGGTGTGTGAAGAAAGGCTCTTCGGATTGTA			205
Sbjct: 147	ACAATGGGGGAAAGCCCTGATCCAGCCATGCCCGGTGTGTGAAGAAAGGCTCTTCGGATTGTA			206
Query: 206AAGCATTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGGCTGTTTGGAGTTACCA				265
Sbjct: 207	AAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGGCTGTTTGGAGTTACCA			266
Query: 266caaaaTAACCCCGGCTAATCTCGTCCACCCCGCCCGGTAATACGAAGGGTCAAGCG				325
Sbjct: 267	ACAGATAAGCACCCGCTAATCTCGTCCACCCCGGCTAATACGAAGGGTCAAGCG			326
Query: 326	TTAATCGGAATTACTGGGGGTAAAGCCCGGCTAGGTGGTTGAGCAAGTTGGATGTGAAAT			385
Sbjct: 327	TTAATCGGAATTACTGGGGGTAAAGCCCGGCTAGGTGGTTGAGCAAGTTGGATGTGAAAT			386
Query: 386	CCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCGTCGAAAACTACTGAGCTAAAGTACGGTAAGCGGTG			445
Sbjct: 387	CCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCGTCGAAAACTACTGAGCTAAAGTACGGTAAGCGGTG			446
Query: 446	GTGGAAATTCTGTGTACCGGTGAAATCGCTAATATAGGAAGCAACACCCCTGGCCAG			505
Sbjct: 447	GTGGAAATTCTGTGTACCGGTGAAATCGCTAATATAGGAAGCAACACCCCTGGCCAG			506
Query: 506	GCTACCACTGGACTGATCTGACCGCTGAGGTGCAAAAGCGTGGGGAGCAACACGATTA			565
Sbjct: 507	GCGACCACTGGACTGATCTGACCGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACACGATTA			566
Query: 566	GATACCGCTGTAATCCACCGGTAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCT			625
Sbjct: 567	GATACCGCTGTAATCCACCGGTAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCT			626
Query: 626	TAGTGGGGATCTAAGCGGATAAGTCAACCGGCTGGGGATACGGCCGGGAGGTTAAAC			685
Sbjct: 627	TAGTGGGGATCTAAGCGGATAAGTCAACCGGCTGGGGATACGGCCGGGAGGTTAAAC			686
Query: 686	TCACATGAATTGACGGGGGCGCCGACAA-CTTTGTAGCATGTGGTTTA-TTCTAAGC-AC			742
Sbjct: 687	TCAAATGAATTGACGGGGGCGCCGACAAAGCGGTGGAAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAAC			746
Query: 743	GCGTAGAACCATAAGTTGGGCAAT-ACCTGCTGAGAACTTTCCAAAAATGAATTAGTGCCT			801
Sbjct: 747	GCGAAGAACCTTACCTGGGCGCTTGACATGCTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCT			806
Query: 802	TGGGAACTCAGACGAGGTGCTGCATGTCTGAAGACATCTCG			844
Sbjct: 807	TGGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGCTGTCTGAGCTCG			848

شكل رقم (2): نتائج تحليل تسلسل الحمض النووي لجين 16S rDNA (Sequencing of 16S rDNAgenes) لبكتيريا *P. aeruginosa* S1-SF مقارنة مع الجين الأصلي (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (ID:NC002516.21))

S2_SF				
Pseudomonas aeruginosa strain SBG2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence				
Sequence ID: gb KR091845.1 				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1262 bits(683)	0.0	799/856(93%)	3/856(0%)	Plus/Plus
Query 13	AGGTCGGA-TAGCTAGTTGGTGGGGT-AGGCCCTACGAGGCGACAAATCCGTAACCTGGTC	72		
Subject 165	AGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCCTACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTC	224		
Query 73	TGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAGC	132		
Subject 225	TGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAGC	284		
Query 133	AGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGCTGTGTGAAAAA	192		
Subject 285	AGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGCTGTGTGAAAGAA	344		
Query 193	GGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAATTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCT	252		
Subject 345	GGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCT	404		
Query 253	GTTTTGACTTTTACCAACAAAATAACCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA	312		
Subject 405	GTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA	464		
Query 313	CAAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCCCGCTAGGTGGTTCAACA	372		
Subject 465	CAAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTCAAGCA	524		
Query 373	AGTTGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTCATCCAAAACCTACTGAGCTAAA	432		
Subject 525	AGTTGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTCATCCAAAACCTACTGAGCTAGA	584		
Query 433	GTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTACCGGTGAAATGCTTAAATATAGGAAGGA	492		
Subject 585	GTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTACCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGA	644		
Query 493	ACACCGTTGGCGAAGGCCAACCACCTGGACTGATACTGACCGTGAGGTGCCAAAAGCGTGGG	552		
Subject 645	ACACCAAGTGGCGAAGGCCAACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCCAAAAGCGTGGG	704		
Query 553	GAGCAACAGBATTATATACCTCTGTTAGTCCACGGCGTAAACGATGTCACCTAGCCGTTG	612		
Subject 705	GAGCAACAGBATTATATACCTCTGTTAGTCCACGGCGTAAACGATGTCACCTAGCCGTTG	764		
Query 613	GGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCACCTAACCGGATAAGTCAACCGCCTGGGGATTACCG	672		
Subject 765	GGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCACCTAACCGGATAAGTCCAGCCGCTGGGGAGTACGG	824		
Query 673	CCGCGAGGTTACACCTCACATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAACGTTGGACCATGTGGT	732		
Subject 825	CCGCAAGGTTAAAACTCAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAACGTTGGAGCATGTGGT	884		
Query 733	TTAATTC TAAGC-ACGCGTAGAACCTTAGTTGGCCATGACCTGCTGAGAACTCTCCAAAG	791		
Subject 885	TTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCCTTGACATGCTGAGAACTTTCCAGAG	944		
Query 792	ATGGAGTGGTGCCCTTCGGAACTCAGACGAGGGTGCTGCATGGCTGACGACATCTCGAGC	851		
Subject 945	ATGGATTGGTGCCCTTCGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGCTCGTCAAGCTCGTGT	1004		
Query 852	CGCGACATGTTGGGTT 867			
Subject 1005	CGTGAGATGTTGGGTT 1020			

شكل رقم (3): نتائج تحليل تسلسل الحمض النووي لجين *16S rDNA* (Sequencing of *16S rDNA* genes) لـ *P. aeruginosa* S2-SF مقارنة مع الجين الاصلي (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (ID:NC002516.21)

11. Panda S.; Bandyopadhyay PK. and Chatterjee SN. (2013). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* PB112 (JN996498) isolated from infected *Labeobata*(Hamilton) by *16SrRNA* gene sequence analysis and fatty acid methyl ester (FAME) analysis. Afr. J. Biotechnol. 12(4): 400-405.
12. Anand D.; Padmanabhan S.; Deventhiran M. and Saravanan P. (2014). Isolation of *Pseudomona ssp.* from *Wrightia Tinctoria* leaf and its *16SrRNA* study. Indian J. Sci. Res. 9 (1): 028-031.
13. Lawson AJ.; Elviss NC. and Owen RJ. (2005). Real-time PCR detection and frequency of *16SrDNA* mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales. J. Antimicrob. Chemother. 56: 282–286.
14. Dadashzadeh K.; Milani M.; Rahmati M. and Akbarzadeh A. (2014). Real-time PCR detection of *16SrRNA* novel mutations associated with *Helicobacter pylori* tetracycline resistance in Iran. Asian Pac. J. Cancer Prev. 15:8883-8886.
15. Trieber CA. and Taylor DE. (2002). Mutations in the *16SrRNA* genes of *Helicobacter pylori* mediate resistance to tetracycline. J. Bacteriol. 184(8): 2131–2140.

وجد أن حصول طفرات في جين *16S rDNA* لبكتيريا *Helicobacter pylori* يسبب حصول مقاومة البكتيريا لمضاد tetracycline (13). ويعد التتراسيكلين من الأدوية القاتلة للجراثيم التي تؤثر على تحت الوحدة 30S من الرايبوسومات ويمنع الربط مع aminoacyl-tRNA، مما يؤدي إلى ضعف في تصنيع البروتين الحيوي. وبينت الدراسات أن سبب مقاومة بكتيريا *Helicobacter pylori* لهذا المضاد إنما يعود للطفرات الحاصلة في جين *16srRNA* (14). وقد بينت نتائج دراسة (15) أن حصول طفرة وراثية في الجين *16S rDNA* وذلك باستبدال الجوانين Guanine بالسايٲوسين Cytosine قد أدى إلى حصول مقاومة لمضاد Tetracycline في بكتيريا *Propionibacterium acnes*، إضافة إلى حصول طفرات في بكتيريا *E. coli* بالجين *16S rDNA* التي أدت إلى زيادة مقاومة البكتيريا لمضاد Tetracycline.

المصادر

1. U ur1 A.; Ceylan O. and Aslım B. (2012). Characterization of *Pseudomonas* spp. from seawater of the southwest coast of Turkey. J. Biol. Environ. Sci. 6(16):15-23.
2. Amuthal K. and Kokila V.(2014). PCR Amplification, sequencing of *16SrRNA* genes with universal primers and phylogenetic analysis of *Pseudomonas aeruginosa*. Int. J. Sci. Res. (IJSR) 3(8): 257- 261.
3. Streeter K. and Katouli M. (2016). *Pseudomonas aeruginosa*: A review of their pathogenesis and prevalence in clinical settings and the environment. Infect. Epidemiol. Med. 2(1): 25-32.
4. Sedighi M.; Safiri S.; Pirouzi S.; Jayasinghe H.; Sepidarkish M. and Fouladseresht H. (2015). Detection and determination of the antibiotic resistance patterns in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens in hospitals of Isfahan, Iran. Sci. Metr.3(1):1-4.
5. Nasreen M.; Sarker A.; Malek MA.; Ansaruzzaman M. and Rahman M. (2015). Prevalence and resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from surface water. Adv. Microbiol. 5:74-81.
6. Altaai M.; Aziz I. and Marhoon A. (2014). Identification *Pseudomonas aeruginosa* by *16srRNA* gene for differentiation from other *Pseudomonas* species that isolated from patients and environment. J. Baghdad Sci. 11(2): 8201- 8201.
7. Elgaml A.; Hassan R.; Barwa R.; Shokralla S. and El-Naggar W. (2013). Analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of Gram negative pathogenic bacteria isolated from urinary tract infections. Afr. J. Microbiol. Res. 7(23):2862-2869.
8. Baron EJ.; Finegold SM. and Peterson ILR. (2007). Bailey and Scott s Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby Company. Missouri.
9. Spilker T.; Coenye T.; Vandamme P. and Lipuma JJ. (2004). PCR based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. J. Clin. Microbiol. 42(5): 2074-2079.
10. Sambrook J. and Rusell DW. (2001). Molecular cloning a laboratory manual. Cold spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

التركيب النسيجي والمستندق للسان أفعى الماء العراقية *Natrix tessellata tessellata*

أزهار رحيم الفرطوسي (1)، نهلة عبد الرضا البكري (1)، هبة صالح مهدي (2)

(1) قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم / جامعة بغداد (2) قسم علوم الحياة/ كلية التربية / جامعة ديالى / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: doonaup@gmail.com

الملخص باللغة العربية

أجريت هذه الدراسة للتعرف على تركيب لسان أفعى الماء العراقية *Natrix tessellata tessellata* نسيجاً على مستوى المجهر الإلكتروني الماسح Scanning electron-microscopy ، ووجد في الدراسة الشكلية أن لسان أفعى الماء العراقية يتكون من ثلاث مناطق (قمة اللسان Lingual apex، جسم اللسان Lingual body ، جذر اللسان Lingual root)، وأوضحت الدراسة النسيجية أن اللسان في الأفعى مبطن بنسيج ظهاري حرشفي مطبق متقرن keratinized stratified squamous epithelium مستند إلى الصفحة الأصلية Lamina propria التي تحتوي على حزم من الألياف العضلية المخططة striated muscle fibres، يتخللها ألياف النسيج الضام Connective tissue fibers، والأوعية الدموية Blood vessels والأعصاب Nerves، ولم يلاحظ وجود أي تراكيب غضروفية أو عظمية في اللسان، كما وبينت دراسة المجهر الإلكتروني الماسح قمة اللسان المشطورة إلى جزئين Bifurcated واحتواء السطح الظهري لجسم اللسان على حز أو أخدود وسطي Median sulcus محاط بطيات من النسيج الظهاري.

الكلمات المفتاحية: اللسان، النسيج، الأفعى العراقية، التركيب الفائق.

Ultra and histological structure of tongue in *Natrix tessellata tessellata* Iraqi water snake

Abeer M. Hussain, Basma A. Jasim and Nawras A.M. Muzahim

Dept. of Biology / College of Sciences for Women/ University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the tongue morphology and histology for Iraqi water snake (*Natrix tessellata tessellata*) using light and scanning electron-microscopy (SEM) techniques. The morphological finding revealed the presence of three parts: lingual apex, lingual body and lingual root. Light microscopic shows that the tongue composed of keratinized stratified squamous epithelium based on lamina contain bundles of striated muscle its fibres including connective tissue, blood vessels and nerve. Cartilage or bone skeleton are absent. The SEM shows that the apex of the tongue is bifurcated and the dorsal surface contains medial sulcus surrounded by epithelial tissue folds.

المقدمة

النتائج

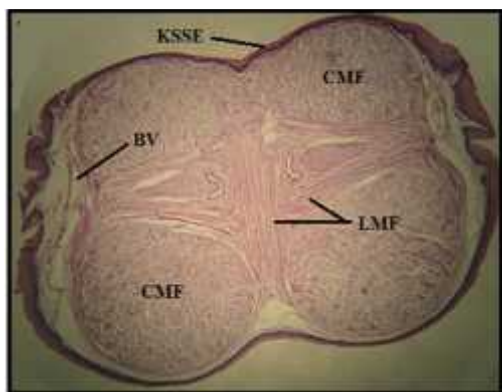
الوصف الشكلي للسان أفعى الماء

ظهر لسان أفعى الماء العراقية *Natrix tessellate tessellate* طويلا ونحيفا، يتراوح معدل طوله من 3-3.5cm، ومعدل عرضه 0.4-0.2 cm، ومحاطا بغشاء رقيق جدا، وظهرت قمة اللسان Lingual apex مشطورة إلى جزئين Bifurcated، وظهر كل جزء مستدقا في قمته. ويرتبط اللسان بقاع التجويف الفمي داخل غمد أو غضروف حلقي Cartilage rings، وتكون جميع أجزائه محمية بواسطة الغضروف الحلقي. يقع اللسان أسفل لسان المزمار Glottis، الذي يؤدي إلى الرغامى Trachea، كما ظهر الجزء الأمامي من اللسان ذا لون أسود والجزء الخلفي منه ذا لون أبيض.

الدراسة النسيجية

أظهرت دراسة المقاطع النسيجية للسان أفعى الماء العراقية أنه مبطن بنسيج ظهاري حرشفي مطبق متقرن Keratinized stratified squamous epithelium، يحيط باللسان من السطحين الظهري والبطني (شكل رقم 1). يستند النسيج الظهاري الحرشفي المطبق المتقرن على الصفيحة الأصلية Lamina propria التي تتكون من نسيج ضام مفكك Loose connective tissue، والذي يحتوي على الأوعية الدموية Blood vessels، ولوحظ أيضا وجود خلايا ملونة Pigment cells، والتي تكون بشكل طبقة مستمرة تقع أسفل الغشاء القاعدي Basement membrane الذي تستند عليه خلايا النسيج الظهاري (شكل رقم 2، 3)، ولم يلاحظ وجود أي نوع من الحليمات اللسانية أو البراعم الذوقية أو أي نوع من الغدد، كما لم يلاحظ وجود أي تراكيب غضروفية أو عظمية في لسان الأفعى.

ووجدت عضلات مخططة هيكلية Skeletal striated muscles مرتبة باتجاهات مختلفة طولية Longitudinal إلى الخارج ودائرية إلى الداخل Circular. ظهرت العضلات الدائرية مرتبة بهيئة أربع حزم متبادلة تشغل أغلب نسيج اللسان، كما يوجد بينها عضلات طولية تقع في مركز اللسان (شكل رقم 1)، ولوحظ وجود الأوعية الدموية Blood vessels والأعصاب Nerves ما بين حزم العضلات (أشكال أرقام 3-5).



شكل رقم (1): مقطع مستعرض في لسان أفعى الماء العراقية يوضح النسيج الظهاري المطبق الحرشفي المتقرن KSSE، الألياف العضلية الطولية LMF، الألياف العضلية الدائرية CMF، وعاء دموي BV. (ملون H&E 10X).

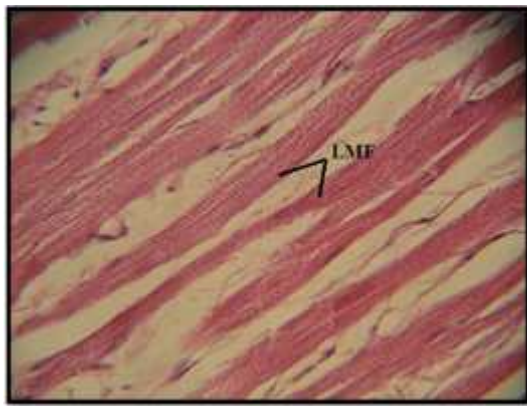
تعد آلية التغذية أحد العوامل المهمة التي تحدد نجاح تكيف الفقريات في بيئاتها المختلفة، وفي التغذية يلعب اللسان دورا أساسيا جنبا إلى جنب مع الأعضاء الأخرى الموجودة داخل وقرب التجويف الفمي (1). إن شكل وتركيب اللسان يختلف بين الأنواع المختلفة ويعكس التنوع الوظيفي لكل لسان (2)، وحالة التغيرات الكبيرة في شكل اللسان يعكس طبيعة الظروف البيئية المختلفة التي تعيش فيها أنواع الفقريات، إذ إن الأنواع أرضية المعيشة تمتلك لسانا ذا بطانة ظهارية متقرنة Keratinized of the lingual epithelium (3)، أما الأنواع مائية المعيشة فإن لسانها يكون ذا بطانة ظهارية غير متقرنة Non Keratinized of the lingual epithelium (4)، في حين تمتلك الأنواع مختلطة المعيشة لسانا ذا بطانة ظهارية متقرنة وغير متقرنة في أجزاء مختلفة من اللسان (5). ويمثل اللسان في الأسماك بارتفاع طفيف في الغشاء المخاطي المبطن لقاع التجويف الفمي. أما البرمائيات، فتمتلك لسانا عضليا قويا لمسك الفريسة (6)، وفي الأفاعي يلعب اللسان دور المستقبل الكيميائي بالتعاون مع العضو الأنفي Vomeronasal Organ في تمييز الروائح المختلفة الموجودة في الهواء (7).

تعد أفعى الماء العراقية *Natrix tessellate tessellate* من الأفاعي العراقية غير السامة، وتوجد في جميع أنحاء العراق، حيث تعيش في الماء وتتغذى على الأسماك والضفادع الصغيرة، وتسمى أيضا بأفعى الرد Dice snake أو حية المي (haia al mai) (8)، وتضم الأفاعي العراقية 37 نوعا تنتمي إلى سبع عوائل وجميعها برية المعيشة، باستثناء أنواع عائلة Hydiopfiidae. وهناك ما يقارب 25% من الأفاعي العراقية تكون سامة (9).

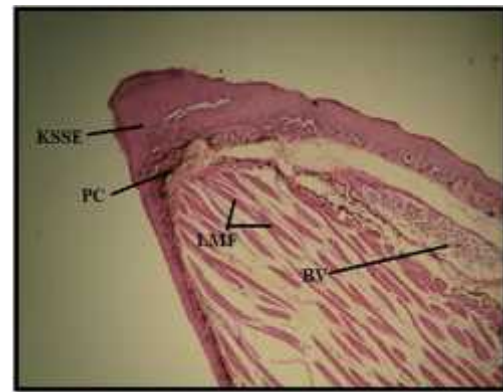
تمت دراسة التركيب التشريحي والنسجي المستند للسان في العديد من الفقريات، فقد درس في البرمائيات (10)، ودرس في الزواحف في عائلة Gekkonidae (11-13)، وفي السلحفاة (14)، والطيور (15-18)، اللبائن (19، 20)، لكن الوصف التشريحي والتركيب النسيجي المستند للسان لم تتم دراسته في الأفاعي العراقية، وإن تكن موجودة، فهي قليلة جدا. لذا جاءت هذه الدراسة التي تهدف إلى التعرف على التركيب التشريحي والنسجي للسان في أفعى الماء العراقية. وهي الدراسة الأولى من نوعها من خلال مراجعتنا للمصادر المتوفرة.

المواد وطرق العمل

أجريت الدراسة على 8 أفاعي ماء عراقية *Natrix tessellate tessellate* جمعت من الأسواق المحلية وبعد قتلها وتشريحها استخرجت ألسنتها لغرض الدراسة، ففي الدراسة النسيجية ثبتت العينات في محلول الفورمالين بتركيز 10% ولمدة 24 ساعة، ثم غسلت بالماء ونكزت بالكحول الإيثيلي بتركيز تصاعدي 70 %، 80 %، 90 %، 95 %، 100 %، وطمرت بشمع البرافين Wax Paraffin درجة انصهاره 56-58 م °، ثم صببت في قالب خاصة وقطعت باستخدام المشراح الدوار Rotary Microtome إلى مقاطع طولية ومستعرضة وبسمك 6µm، ثم لونت بملون هيماتوكسيلين أركوال إيوسين المزدوجة H&E وحملت باستعمال كندا بلسم. لقد اعتمد في تحضير الشرائح النسيجية على الطريقة المذكورة في (21). التقطت الصور النسيجية للمقاطع المنتخبة، لتوضيح نتائج الدراسة بكاميرا نوع SONY 14.1 MEGA PIXELS. أما دراسة المجهر الإلكتروني الماسح، فتضمنت تثبيت العينات باستخدام 2.5% جلوترالدهايد Glutaraldehyde، بعد إزالة العينات من المثبت تم غسلها ثلاث مرات باستخدام 0.1 M Sodium Cacodylate buffer pH 7.2 لمدة 15 دقيقة لكل مرة، استخدم تركيز تصاعدي من الكحول الإيثيلي 100%، 100%، 70%، 50%، 30%، 100% لمدة 15 دقيقة لكل تركيز. جففت العينات باستخدام critical point dryer، تم وضع العينة على حامل خاص وتم تغطيتها بالذهب، ثم التقطت الصور باستخدام مجهر إلكتروني ماسح نوع AIS2300C.

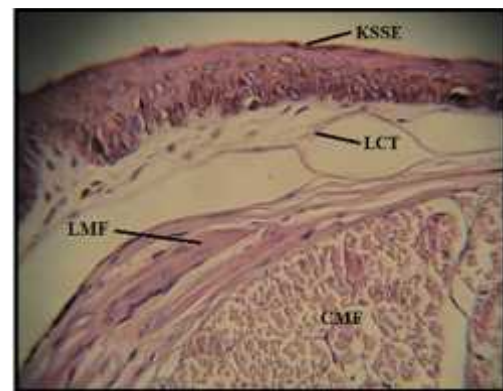


شكل رقم (5): مقطع طولي مكبر للسان أفعى الماء العراقية يوضح الالياف العضلية الطولية LMF. (100H&EX).

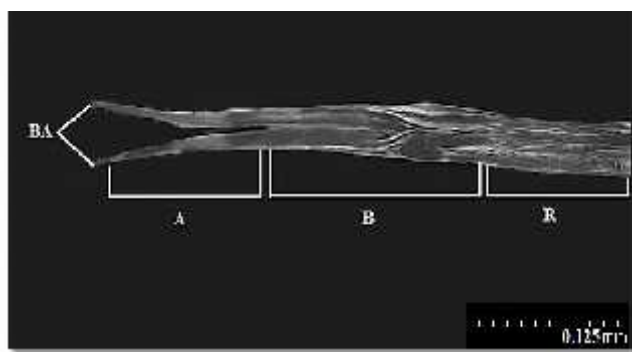


شكل رقم (2): مقطع طولي في لسان أفعى الماء العراقية يوضح النسيج الظهاري المطبق الحرشفي المتقرن KSSE في النهاية الامامية للسان، خلايا صباغية PC، وعاء دموي BV، الالياف العضلية الطولية LMF. (10X·H&E)

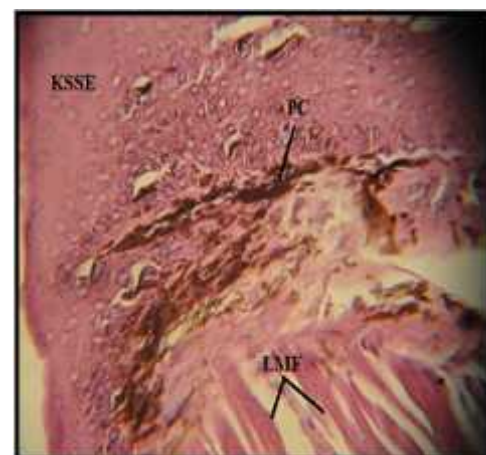
دراسة المجهر الإلكتروني الماسح ظهرت أجزاء اللسان الثلاثة قمة اللسان Lingual apex وجسم اللسان Lingual body، وجذر اللسان Lingual root (شكل رقم 6). وظهرت قمة اللسان مشطورة إلى جزئين Bifurcated مستدقين باتجاه النهاية البعيدة، والتي تكون ملساء Smooth ولا تحتوي على حلبيات لسانية Lingual papillae، ويلتقي الشطران عند بداية منطقة جسم اللسان (شكلي رقم 7 6). أما الجزء الثاني، فهو جسم اللسان، الذي يحتوي على أخدود وسطي Mediansulcus في النصف الامامي منه، والذي يمثل منطقة انتقالية بين قمة اللسان والجزء الامامي لجسم اللسان، ولا يمتد إلى النصف الخلفي لجسم اللسان، ويمتلك الأخدود حافات Sulcus ridges تلتقي عند نهاية النصف الامامي لجسم اللسان (شكلي رقم 6، 8B). ويوجد بين الحافات والأخدود انتفاخات واضحة Bulges تمثل خلايا مضلعة Polygonal خماسية Pentagonal وسداسية Hexagonal، وبقية الشكل Dome-shaped، وكذلك نصف كروية Hemispherical (شكلي رقم 6، 8C). وفي النصف الخلفي لجسم اللسان، توجد طيات طولية Longitudinal folds تمتد إلى بداية منطقة الجذر (شكلي رقم 6، D8). أما بالنسبة إلى منطقة الجذر، فقد لوحظ وجود طيات طولية منقطعة ووضوح العضلات الهيكلية في النهاية القاصية للجذر والمتصلة بالبلعوم (شكل رقم 9).



(3): مقطع مستعرض في لسان أفعى الماء العراقية يوضح الالياف العضلية الطولية LMF والدائرية CMF، النسيج الضام المفكك LCT، النسيج الظهاري المطبق الحرشفي المتقرن KSSE. (40X H&E)



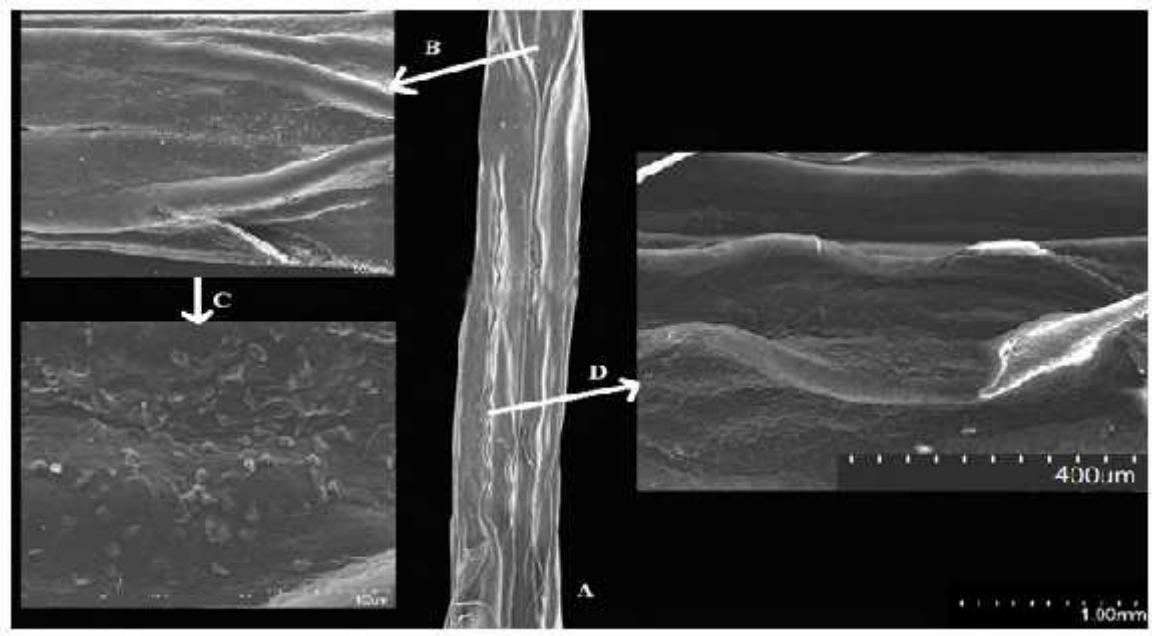
(6): صورة المجهر الإلكتروني الماسح يوضح أجزاء لسان أفعى الماء العراقية Apex=A Bifurcated Apex=B Body=B Root=R



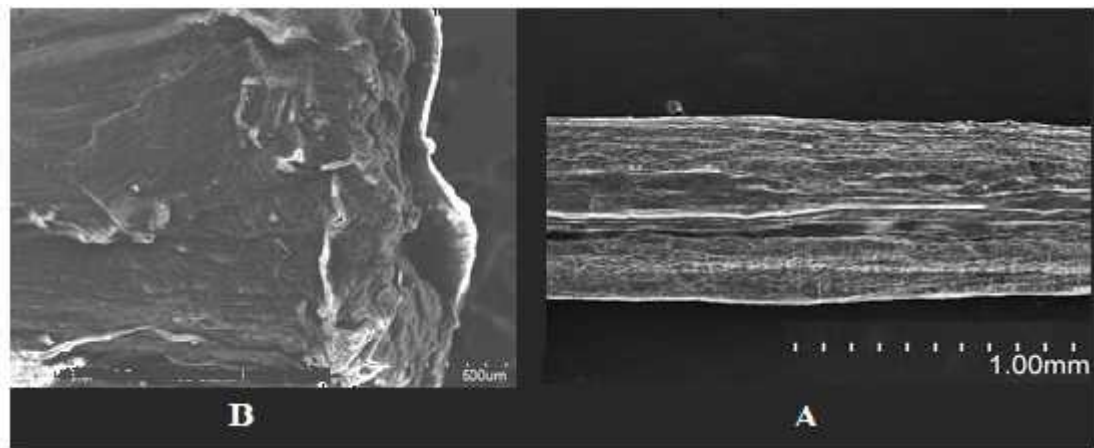
شكل رقم (4): مقطع طولي في لسان أفعى الماء العراقية يوضح النسيج الظهاري المطبق الحرشفي المتقرن KSSE، الخلايا الملونة PC، والالياف العضلية الطولية LMF. (40H&EX).



شكل رقم (7): صورة المجهر الالكتروني الماسح توضح النهاية الامامية المشطورة للسان افعى الماء



(8): (A) صورة المجهر الالكتروني الماسح للسان افعى الماء العراقية توضح السطح الظهري لجسم اللسان (B) Lingual body (C) (Median Sulcus) (D) (Bulgus) جزء مكبر للطيات الطولية (Longitudinal fold).



(9): صورة المجهر الالكتروني الماسح للسان افعى الماء العراقية توضح جذر اللسان Lingual root (A) طيات طولية منقطعة، (B) العضلات القاصية في نهاية جذر اللسان.

المناقشة

papillae فقط (26). ويختلف شكل الحليمات اللسانية باختلاف الأنواع وحتى باختلاف أماكن تواجدها على سطح اللسان. فقد تتواجد الحليمات الفطرية في منتصف السطح الظهري للسان، أما الحليمات الورقية أو الخيطية، فتوجد في النهاية الخلفية للسان (13)، (27). بينت نتائج الدراسة الحالية عدم تواجد البراعم الذوقية في لسان أفعى الماء العراقية لعدم امتلاكها حليمات لسانية، التي عادة ما تتواجد فيها البراعم الذوقية، وهذا يتفق مع ما أشار إليه (22). وتشير عدد من الدراسات إلى اعتماد الأفعى على الإشارات الشمية Olfactory cuse بالتعاون مع العضو الميكعي الأنفي Vomeronasal Organ في التعرف على غذائها ومجاراة سلوكها الفطري (2، 13، 28). كما ظهر لسان الزواحف خال من الغدد. في حين أشارت الدراسات (4، 11) إلى امتلاك الزواحف نسبة عالية من الغدد اللسانية، والتي تتألف من خلايا مخاطية Mucosa Sero-Mucosa مصفوية، والتي تتفتح بقنوات في سطح البطانة الظهارية ويفصل بين وحداتها الفارزة حواجز من النسيج الضام. وبينت الدراسة أيضاً امتلاك اللسان نموا جيدا للمضلات الهيكلية المخططة والتي ترتب في حزم تظهر في مقاطع طولية وعرضية، وهذا لا يتفق مع ما أشار إليه (29) في أن ترتيب الألياف العضلية في لسان الأفعى يظهر بشكل مفرد ولا يترتب بشكل حزم. من جهة أخرى، أوضحت دراسة المجهر الإلكتروني الماسح التي تمت في الدراسة الحالية أن لسان أفعى الماء يكون طويلا ونحيفا ومتفعا في نهايته الأمامية إلى فرعين يستندان باتجاه النهاية البعيدة، يكون الثلث الأول منه رفيعا Lingual Apex مقارنة بالثلثين الخلفيين وهما Body lingual و Root lingual. ويتفق هذا مع نتائج دراسة كل من (2، 22)، ويحتوي اللسان على انخفاض أو اخذود وسطي Sulcus Median يمتد من النهاية الأمامية المشطورة إلى منتصف جسم اللسان، ويوجد على السطح الظهري لجسم اللسان عدد من النتوءات الصغيرة Bulges التي تكون بأحجام وأشكال مختلفة. وهذا يتفق مع ما أشار إليه (22) من حيث وجودها بأعداد كبيرة على السطح الظهري للسان الأفعى *Elapheculmacophora*، لذلك يبدو سطح اللسان موقع لجلب المواد والمحفزات الكيميائية والتي تتصل مع عضو جاكيسون. يمتلك السطح الظهري لجسم اللسان وعلى جانبي الأخذود الواسطي طبقات من النسيج الظهري والتي تصغر باتجاه النهاية الخلفية للسان، وهذه الطبقات تعمل على تقليل وزيادة المساحة السطحية للسان (2).

المصادر

1. Roth G. And Wake DB. (1989). Conservation and innovation in the evolution of feeding in vertebrates. In Complex organismal functions: Integration and evolution in vertebrates Eds., Wake DB. and Roth G. John Wiley & Sons. New York. pp:7-21.
2. Iwasaki S. (2002). Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. J. Anat. 201:1-13.
3. Iwasaki S. and Kumakura, M. (1994). An ultrastructural study of the rat snake, *Elaphequadrivirgata*. Ann. Anat. 176:455-462.
4. Iwasaki S.; Asami T.; Asami Y. and Kobayashi K. (1992). Fine structure of the dorsal lingual epithelium of the tongue of the Japanese terrapin, *Clemmys japonica* (Chelonia, Emydinae). Arch. Histol. Cytol. 55:295-305.
5. Iwasaki S. (1992). Fine structure of the dorsal lingual epithelium of the tongue of the freshwater turtle, *Geoclemys reevesii* (Chelonia, Emydinae). J. Morphol. 211: 125-135.
6. Kent GG. and Carr RK. (2001). Comparative anatomy of the vertebrates. MC Graw-Hill Higher Education, New York. 9th ed. P.: 824.
7. Wassif ET. (2001). The fine structure of the dorsal lingual epithelium of the scincine lizard *Chalcideseo cellatus* forsal

بينت نتيجة الدراسة الحالية أن شكل اللسان في أفعى الماء العراقية *Natrix tessellate tessellate* هو أسطواني وضيق، ويتألف من ثلاثة أجزاء هي قمة اللسان apexlingual، ومنطقة وسطية هي جسم اللسان lingualbody، ومنطقة خلفية هي جذر اللسان rootlingual، وتنتشر مقدمة اللسان إلى فرعين يستندان باتجاه النهاية الحرة، وهذا يتفق مع شكل اللسان في أفعى *Elaphequadrivirgata* (3)، وأفعى *Elapheculmacophora* (22). يظهر اللسان تغيرا كبيرا في شكله في الزواحف المختلفة، فشكل اللسان في الدراسة الحالية لا يتفق مع شكل اللسان في السحالي والسلاحف، فيكون في السحلية *Chalcideseo cellatus* ذا شكل مثلث وقمته تحوي حزرا صغيرا في المنظر السطحي، وقمة مدببة في المنظر الجانبي (7، 23)، واللسان في السحلية الإيطالية *Podarcissicula* Italian lizard ذو شكل مثلث مسطح ويحوي في قمته فرعين صغيرين مستديقيين مسطحين بصورة كبيرة، وخال من الحليمات (24). أما شكل اللسان في *Gekko japonicas* فيمتاز بشكله المسطح وقمته الضيقة ونهايته الخلفية تكون عريضة وتحوي قمته على فرعين صغيرين مسطحين (25). يبطن السطح الظهري والبطني للسان الأفعى قيد الدراسة بطبقة ظهارية حرشفية مطبقة متقرنة squamous epithelium stratified، وهذا يتفق مع ما أشار إليه (3)، في حين يقتصر التقرن على السطح الظهري لأغلب الزواحف (5، 7، 14). وظهرت البطانة الظهارية للسان السحلية *Gebclemysreevesii* متباينة ما بين نسيج حرشفي مطبق متقرن في المنطقة القمية من اللسان إلى نسيج حرشفي مطبق غير متقرن في المنطقة الوسطية والخلفية للسان (5)، ولا تتفق مع دراسة (25) الذي ذكر أن البطانة الظهارية للسان *Gekkojapanicus* متغايرة ما بين نسيج مطبق عمودي Columnar keratinized stratified، إلى نسيج مطبق حرشفي، ولا مع دراسة (11) الذي ذكر أن الجزء الأمامي للسطح الظهري من اللسان في *Ptyodactylushasselquistii* House Gecko يغطيه نسيج ظهري حرشفي متقرن خال من أي تراكم غدية. كما أن بطانة لسان السحلية الإيطالية *Podarcissicula* تكون متغايرة أيضا ما بين نسيج حرشفي مطبق متقرن في المنطقة الأمامية للسطح الظهري من اللسان وخالية من الحليمات إلى نسيج حرشفي مطبق غير متقرن في المنطقة الوسطية والخلفية لسطح اللسان، في حين يغطي السطح البطني بالكامل بنسيج حرشفي مطبق متقرن (24). وقد تكون البطانة الظهارية مكونة من نسيج مكعب مطبق Stratified cuboidal epithelium في السطح الظهري يتحول إلى مطبق كاذب Pseudo-stratified كلما اتجهنا إلى جوانب اللسان (7). إن التغيرات في تفرع الظهارة اللسانية في أنواع الزواحف يختلف باختلاف موطن المعيشة ووظيفة اللسان (2، 13). تستند البطانة الظهارية إلى الصفيحة الأصلية lamina propria والتي ظهرت في أفعى الماء العراقية مكونة من نسيج ضام مفكك loose connective tissue يمتلك أليافا مغراوية White fiber وخلايا وأوعية دموية شعرية، في حين ظهرت الصفيحة الأصلية المكونة للسان كل من العضاءة *Ptyodactylusguttatus* والعضاءة *Stenodactyluspetrii* مكونة من نسيج ضام كثيف غني بالأوعية الدموية، ويمتد إلى مركز كل حليمة لسانية (13). كما لوحظ وجود خلايا ملونة أسفل الغشاء القاعدي. وهذا يفسر اللون الاسود في الجزء الأمامي للسان الأفعى العراقية. ويتفق هذا مع ما أشار إليه (26) في دراسته للسان في نوعين من الزواحف أكلة الحشرات، من حيث وجود خلايا ملونة أسفل الغشاء القاعدي. كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم احتواء السطح الظهري للسان الأفعى على حليمات لسانية وهذا يتفق مع ما أشار إليه كل من (3، 23)، وأن الحليمات اللسانية تنتشر على السطح الظهري، في حين يكون السطح البطني خال منها (5، 25، 27)، ويمتلك السطح الظهري للسان السحلية *Gebclemysreevesii* حليمات قبية الشكل (5)، والحليمات شبه ورقية، تنتشر على السطح الظهري للسان السحلية الإيطالية *Podarcissicula* (24). ويوجد في السطح الظهري للسان العضاءة *Trachylepisvittata* ثلاثة أنواع من الحليمات متمثلة بحليمات خيطية Filiform papillae، وحليمات فطرية Fungiform papillae، وحليمات مكعبية Hemiechinusauritus، أما العضاءة Cuboidal papillae فيوجد على السطح الظهري للسانها حليمات خيطية

- Arvicanthisniloticus*(Muridae,Rodentia). J. Amr. Sci. 8(4):619-627.
21. Bancroft JD. and Steven A. (1982). Theory and practice of histology techniques. Churchill. Livingston, London. 2nded. p.: 662.
 22. Iwasaki SI.; Yoshizawa H. and Kawahara I. (1996). Three-dimension ultrastructure of the surface of the tongue of the rat snake, *Elapheclimacophora*. J. Anat. Rec. 245:9-12.
 23. Sarhan OMM. and Hussein RM. (2013). Ultrastructure studies on the tongue of some Egyptian lizard 1-Scincine Lizards *Chalcidesoscellatus* and *Chalcidessepsoides* (Lacertilia,Scincidae). J. Cytol. Histol. 4:(165) 1-10.
 24. Abbate F.; Guerrero M.; Montalbano G.; Zichichi R.; Germana A. and Ciriaco E. (2010). Morphology of the lingual dorsal surface and oral taste buds in Italian lizard (*Podarciscicula*). J.Anat.Histol.Embryol.39:167-171.
 25. Iwasaki S. (1990). Fine structure of the dorsal lingual epithelium of the lizard, *Gekko japonicas*. (Lacertilia, Gekkonidae). Am. J. Anat. 187: 12-20.
 26. Taha AM. (2012). Comparative anatomical, histological and histochemical study of tongue in two species of insectivorous vertebrates. J. Aust. Bas.and Appl. Sci. 7(1): 401-410.
 27. El-Sayyad HIH.; Sabry DA.; Khalifa SA.; Abou-El-Naga AM. and Foda YA. (2011). Studies on tongue of Reptilian Species *Psammodromus*, *Tarentolaannularis* and *Crocodylusniloticus*. Int.J.Morphol. 29(4): 1139-1147.
 28. Gharzi A.; Abbasi M. and Yusefi P. (2013). Histological studies on the vomeronasal organ of the worm-like snake, *Typhlopsvermicularis*. J. Biol.Sci. 13 (5): 372-378.
 29. Andrew W. (1959). Textbook of comparative histology. Oxford University Press New York. Pp.: 249-311.
 - (Scincidae,Sauria,Reptilia) I. Histogenesis of the lingual epithelium. Egypt. J. Biol.3: 12-19.
 8. Khalaf KT. (1959). Reptiles of Iraq with some notes on the amphibians. Ar-Rabitta Press, Baghdad. P.:73.
 9. Zuhair AMR. (2009). Draft Venomous Snakes of Iraq. Nature Iraq Sulaimani, Kurdistan-Iraq. February.
 10. Guriadelli MF.; Lopes RA.;Sala MA. and Roberto T. (2011). Morphological, histological and histochemical study of the lining and glandular epithelium of the tongue of the Bull frog *Rana catesbeiana*. Int. J. Morphol. 2(1): 226-233.
 11. Jarrar BM. and Taib N. (2004). Histochemical Characterization of the Lingual Salivary Gland of the House Gecko, *Ptyodactylushas selquistii* (Squam-ata: Gekkonidae). Asiatic. Herpetol. Res.10:176-181.
 12. Jamniczky HA.; Russell AP.; Johnson MK.; Montuelle and Bels VL. (2009). Morphology and histology of the tongue and oral chamber of *Eublepharis macularius* (Squamata:Gekkonidae), with special reference to the fore tongue and its role in fluid uptake and transport. J.Evol. Biol.: 1-10.
 13. Darwish ST. (2012). Comparative histological and ultrastructural study of the tongue in *Ptyodactylus guttatus* and *Stenodactylus petrii* (Lacertilia, Gekkonidae). J. Am. Sci. 8(2):121-126.
 14. Iwasaki SI.; Asami T. and Wanichanon C. (1996). Ultrastructural study of the dorsal lingual epithelium of the soft-shell turtle, *Trionyx cartilaginous* (Chelonia, Trionychidae). Anat. Rec. 246:305-316.
 15. El-Bakary NER. (2011). A Comparative scanning electron microscope study of the dorsal lingual surface of *Meropessorientalis* (Little Green Bee Eater) and *Meropeseptaster* (European Bee Eater). Middle-East J. Sci. Res. 9(3):384-389.
 16. El-Bakary NER. (2011). Surface morphology of the tongue of the hoopoe (*Upupaepops*). J. Am. Sci. 7(1):394-399.
 17. Pasand AP.; Tadjalli M. and Mansouri H. (2010). Microscopic study on the tongue of male ostrich. Europ. J. Biol. Sci. 2(2):24-31.
 18. Abd El-Fattah B. and El-Beltagy BM. (2013). Comparative studies on the tongue of white-throated king fisher (*Halcyon smyrnensis*) and common buzzard (*Buteobuteo*). Egypt. Acad. J. Biol. Sci. 4(1):1-14.
 19. Iwasaki S.; Yoshizawa H. and Kawahara I. (1999). Ultrastructural study of the relationship between the morphogenesis of filiform papillae and the keratinization of the lingual epithelium in the rat. J.Anat.195: 27-38.
 20. Nasr ES.; Gamal, AM. and Elsheikh EH. (2012). Light and scanning electron microscopic study of the dorsal lingual papillae of the rat

مسح لللافقاريات المائية في بعض المسطحات المائية في محافظة واسط – العراق

ميسون حسن مشجل السراي

قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد/ جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: maysoon_rah@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

شملت الدراسة الحالية مسحاً لللافقاريات المائية في ثمانية مواقع في محافظة واسط – العراق، جمعت باستخدام مجرفة يدوية وكراءة اكمات (15 X 15) سم² بواقع خمس مكررات، تم الجمع بمسافة 1-2 م من حافة النهر وعلى عمق 50-90 سم خلال الفترة من شهر يوليو 2015 إلى شهر مايو 2016. وشخصت 88 وحدة تصنيفية كانت 23 منها تعود إلى مجموعة الابدائيات Protozoa و 4 تعود إلى مجموعة المعكرات Turbellaria و 5 تعود إلى الديدان الخيطية Nematoda و 10 تعود إلى مجموعة الديدان الحلقية Annelida و 20 تعود إلى مجموعة القشريات Crustacea و 8 تعود إلى مجموعة الحشرات Insecta و 10 تعود إلى مجموعة النواعم Mollusca. سجلت مجموعة الابدائيات أعلى نسبة مئوية مقارنة بالمجاميع الأخرى وصلت إلى 42 % من المجموع الكلي لللافقاريات المائية. بينت النتائج وجود فرق واضح في التوزيع الزمني والمكاني في إعداد وكثافة الأنواع اللافقارية المائية بسبب الاختلاف بين مواقع الدراسة في الخواص الفيزيائية والكيميائية.

الكلمات المفتاحية: لافقاريات مائية، محافظة واسط.

A survey of aquatic invertebrates in some aquatic systems in Wasit Governorate - Iraq

Maysoon H. M. Al- Serai

Dept. of Biology/ College of Sciences for Women / University of Baghdad /Republic of Iraq

ABSTRACT

The present study included a survey of aquatic invertebrates in eight sites in Wasit Governorate - Iraq, collected using a hand shovel and Eckman Dredge (15 X 15) cm² by five replicates were combined with a distance of 1-2 meters from the edge of the river, and at a depth of 50-90 cm during the month July 2015 to May 2016, were diagnosis 88 taxonomic units, 23 belonging to a group Protozoa, 4 belonging to group of Turbellaria, 5 belonging to Nematoda, 10 belonging to group of Annelida and 20 belonging to group of crustaceans. The protozoa were Recorded highest percentage compared to other aggregates amounted to 42% of the total number of aquatic invertebrates. The results showed a clear difference in the temporal and spatial distribution in the preparation and the density of aquatic invertebrate species because of the difference between the study sites in the physical and chemical properties.

المقدمة

وصف الموقع الجغرافي لمنطقة الدراسة

منطقة الدراسة (خريطة رقم 1) محافظة واسط تقع في الجزء الجنوبي من المنطقة الوسطى من العراق بين خطي طول 32 – 44 ، 36 – 46 وخطي عرض 31 – 31 ، 31 – 32. تحدها من الشمال العاصمة بغداد ومن الشمال الشرقي محافظة ديالى ومن الشرق جمهورية إيران الإسلامية ومن الجنوب الشرقي محافظة ميسان ومن الجنوب محافظة ذي قار ومن الغرب تحدها محافظتي بابل والديوانية. تقع الكوت على نهر دجلة وتتفرع منها انهار: الدجيلي، والغراف، وشط الشطرة، وشط البدعة، وغيرها. جميع المواقع المدروسة في محافظة واسط لها أهمية بيئية فهي تخدم الكثير من المناطق الزراعية في المحافظة كما ولها تأثير واضح على مياه نهر دجلة باتجاه المحافظات الجنوبية الواقعة أسفل المحافظة ولذلك وتم اختيار ثمانية مواقع لمواقع مختلفة في المحافظة وكما يلي :

الموقع 1 (ST1): نهر دجلة في ناحية الاحرار (معظم اراضيها زراعية) .

الموقع 2 (ST2): نهر دجلة عند خروجه من مدينة الكوت (ناحية شيخ سعد) .

الموقع 3 (ST3): نهر الدجيلي فرع من فروع نهر دجلة في ناحية (الدجيلية) ويطلق عليها بعض الاحيان (العروبة) تقع جنوب مدينة الكوت بمسافة 29 كم وتسمى (29) للسهولة تشتهر الناحية بزراعة الحنطة والشعير وكذلك الرقي وهو مشروع مأخوذ عن مشروع مماثل في يوغسلافيا ويطلق عليه البعض سابقا (المشروع اليوغسلافي) .

الموقع 4 (ST4): نهر الجناي فرع من فروع نهر دجلة يقع في قضاء الحي (تم انشاء لاغراض سقي الاراضي الزراعية) .

الموقع 5 (ST5): نهر الغراف اكبر فروع نهر دجلة (ناحية الموقية) يمر بعدة مدن في المحافظة ويدخل الى محافظة ذي قار .

الموقع 6 (ST6): الجباب (ام الجري) يقوم بتصريف مياه هور الشويجة الى دجلة بعد خروجه من واسط الى ذي قار .

الموقع 7 (ST7): نهر الكلال، أو ما يعرف محلياً بـ"كلال بدر"، عبارة عن نهر كبير مصدره من الأراضي الإيرانية، وينحدر من الشمال الشرقي لقضاء بدره ويغذي مساحات كبيرة من الأراضي الزراعية والبساتين بالمياه التي يزداد تدفقها خلال فصل الشتاء، ما يؤدي في بعض المواسم، إلى حصول فيضانات شديدة، لكن كميات المياه المتدفقة منه تقل صيفاً، غير أنها تكون كافية لسقي الأراضي الزراعية والبساتين والاستخدامات الأخرى.

الموقع 8 (ST8): نهر المالح (او مايعرف بالمصب العام، مياه صرف زراعي) في قضاء النعمانية يصب في هور الدلمج .

من الاتجاهات الحديثة في الدراسات البيئية هو إيلاء أهمية أكبر للعوامل الإحيائية في وصف حالة النظام البيئي ، فالعوامل الفيزيائية والكيميائية لا تعكس حالة النظام البيئي بشكل واضح، بسبب التداخل الكبير بينهما والذي يجعل من الصعوبة تمييز العامل الأكثر تأثيراً في حياتية الكائنات التي تعيش في تلك النظم ، فضلاً عن تعقيد وتنوع استجابة النظام البيئي لهذه المؤشرات، أن مراقبة الأنظمة البيئية يحتاج إلى قياسات أكثر دقة تساند وتصف هذه الأنظمة (1). كما أن المجتمعات الإحيائية عادة ما تكون ثابتة ومستقرة وفي تماس مستمر مع خصائص الماء فتعد كمراقب مستمر لحالة هذه المياه ، فضلاً عن أن القياس المباشر لحالة الكائن الحي المعرض للتأثير يجهز معلومات كافية لتقييم صفات الماء، فضلاً عن أن هذه المجتمعات تستجيب لمعدى واسع من العوامل البيولوجية والفيزيائية والكيميائية في البيئة (2).

ومن أهم الأحياء المائية ، اللاقاريات فهي تحتل مواطن مختلفة في البيئة المائية ، فهي تقطن منحدرات المياه ذات الطبيعة الصخرية للأنهار في المناطق الجبلية والمناطق الساحلية ذات الطبيعة الرملية أو الطينية وتوطن البرك الحارة والجديدة والمالحة . تمتلك اللاقاريات المائية أهمية من الناحيتين العلمية والاقتصادية، وتحتل مواقع متميزة في السلسلة الغذائية فتعد مستهلكات أولية وحلقة بين المستهلكات الأولية والثانوية، وتعد كمادة غذائية مهمة جداً وغنية بالبروتين لأحياء مائية أخرى وخاصة الأسماك، كما تجهز الغذاء للأحياء في اليابسة. ولها خدمات ضرورية للنظام البيئي من خلال تسريع عمليات التحلل، فمنها كائنات Scavengers تتغذى على الكائنات الميتة والمواد العضوية الأخرى التي ترسب في القاع وتعيد دوران الكثير من العناصر، كما وتطلق اللاقاريات المغذيات إلى المياه من خلال الحفر ونشاط التغذية والافراز إذ إن الكتريا والفطريات والطحالب والنباتات المائية تتغذى على تلك المغذيات ويساعد على تسارع نموها (3)، ولها دور في نقل المغذيات إلى الطبقات العليا من الماء وكذلك تساعد في تنقية المياه من الرواسب والنفائض العضوية العالقة من خلال التغذية الترشيحية. العديد من اللاقاريات هي مفترسات وهذا يساعد في السيطرة وخفض أعداد و أحجام الفريسة ومواقعها (4). لذلك فمجتمع اللاقاريات يكشف مدى استقرار Stability والتنوع Diversity في الشبكة الغذائية (5).

استخدمت اللاقاريات المائية كدلائل إحيائية في تحديد نوعية المياه ، فاستخدم (6) اللاقاريات القاعية العيانية لمراقبة عملية إنعاش الأهوار من خلال دراسته لأحياء القاع في هور أبو زرك جنوب العراق، وبين أن العوامل المؤثرة في تنوع اللاقاريات القاعية العيانية هي درجات حرارة المياه والفوسفات الفعالة وجريان المياه والأكسجين الذائب واليخضور والأس الهيدروجيني والنترات الفعالة.

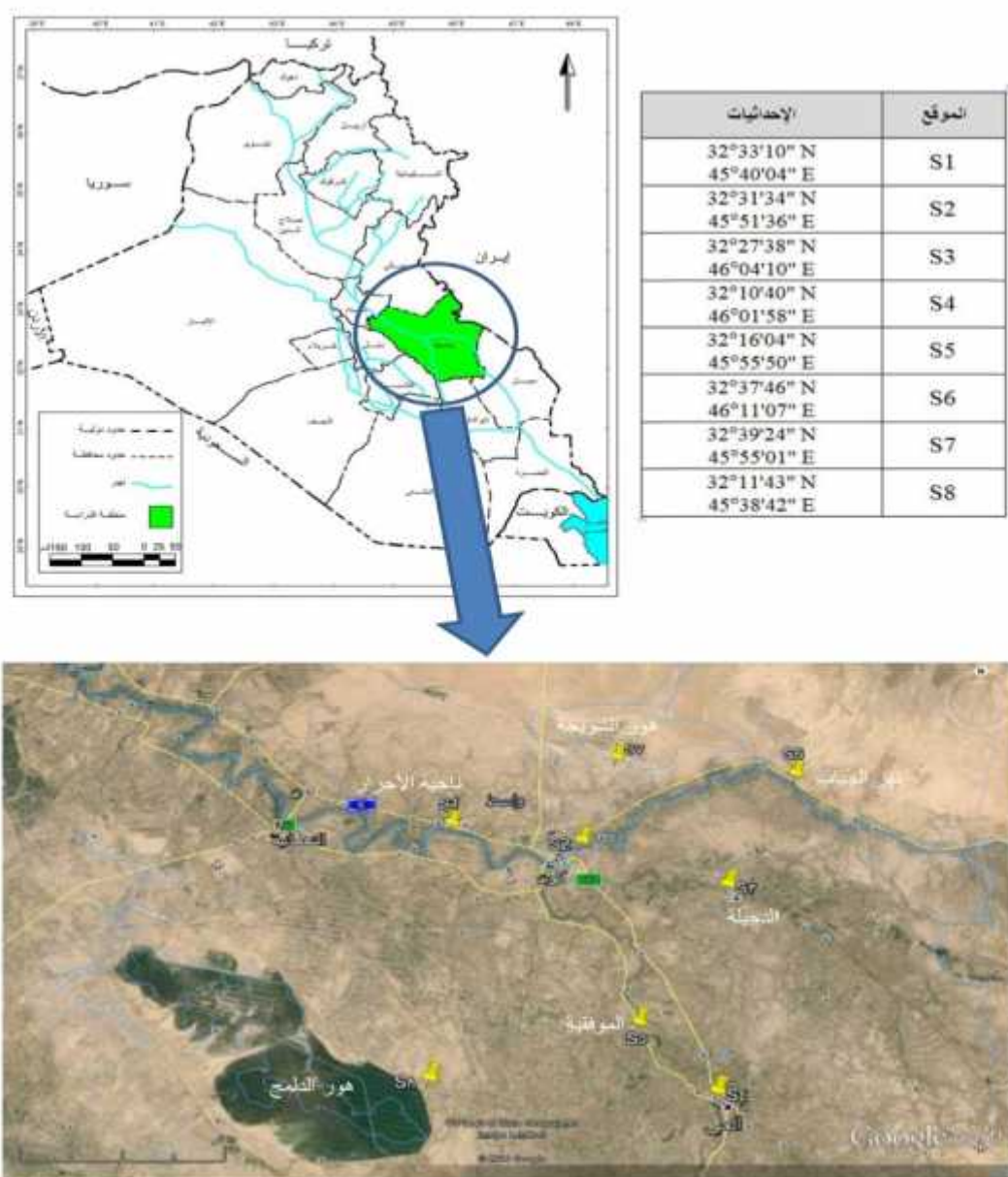
استخدمت الديدان قليلة الأهلاب كمؤشرات للتلوث والتراكم الحيوي (7)، واستخدمت الديدان قليلة الأهلاب كدلائل لتقييم درجة الإثراء الغذائي (8).

كما اعتمد كل من (9) و (10) أنواعاً من النواع لدراسة تراكم بعض المعادن النزرة وأكدوا على أهمية أنواع هذه الشعبة كدلائل حيوية.

يتأثر تركيب مجتمع اللاقاريات بالخصائص الفيزيائية والكيميائية للمساحات المائية منها طبيعة القاع والعمق ودرجة حرارة الماء وكمية الأكسجين المذاب والأس الهيدروجيني ودخول العناصر الثقيلة والمواد السامة إلى البيئة المائية من المصادر الزراعية والصناعية والمنزلية، وللمغذيات تأثير غير مباشر فيها، فالمغذيات تحفز نمو النباتات المائية، مما يؤدي إلى زيادة المادة العضوية في الرواسب.

ومن هنا جاءت فكرة الدراسة الحالية التي هدفت إلى التعرف على المكون النوعي للاقاريات المائية ومجموعة الابتدائيات في مواقع مختلفة الملوحة في محافظة واسط، والتوسع في الدراسات في هذا المجال ولكافة مناطق العراق، ولتكن قاعدة بيانات مستقبلية من أجل التوصل إلى مدى تأثير التغيرات الموسمية البيئية على تواجد وفرة المجاميع التصنيفية للاقاريات المائية ، لكونها قاعدة غذائية أساسية لمجتمع الأحياء المائية.

المواد وطرق العمل



خريطة رقم (1): محافظة واسط وموقعها الجغرافي

جمع النماذج

ورقم العينة وتاريخ جمعها ونقلت إلى المختبر لعزل اللاققرات الوسطى Meiobenthos وصغيرة الحجم Microbenthos، تم فحص العينات باستخدام مجهر تشريحي dissecting microscope تحت قوة تكبير (X10 و X40). تم التصنيف بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية (11، 12).
تم قياس كل من درجة حرارة الماء باستخدام المحرار الزئبقي الذي كانت أقل تدريجية فيه 1 والاس الهيدروجيني والملوحة باستخدام جهاز قياس التوصيلية الحقلي Portable Digital Conductivity Meter صنع شركة Hanna كما حسبت الملوحة Salinity باعتماد قيم التوصيلية للمياه على وفق ما جاء في (13). وتم قياس العسرة الكلية استخدمت الطريقة الموضحة في (14).

تم جمع النباتات المائية شهرية للمدة من تموز 2015- ايار 2016 ، باستخدام مجرفة يدوية ذات أبعاد (15 X 15) سم² بينما تم جمع الراسب والطحالب الخيطية وبقايا النباتات الميتة والملتصقة على جرف مواقع الدراسة بانزال كراءة اكامان Eckman Dredge ابعاده (15 x 15) سم وبواقع خمسة مكررات علما بان العينات كانت تجمع على بعد 1-2 م من الضفة ويعمق 50-90 سم ، توضع عينة الرواسب في منخل يدوي سعة فتحاته (0.2) ملم وتم غسل الراسب والطين بماء النهر وبعد الانتهاء من عملية النخل يتم عزل اللاققرات الكبيرة Macroenthos الملتصقة بملقط وحفظت في اوعية بوليثلينية محكمة السد واضيف اليها فورمالين 4% ويتم تأشير اسم الموقع ورقم العينة وتاريخ جمعها ، اما الراسب و النباتات والطحالب الخيطية وضعت في حاويات بلاستيكية مع قليل من ماءالمواقع و تأشير اسم الموقع

النتائج والمناقشة

والقشريات بنسبة مئوية وصلت الى (18 و 16) % وعلى التوالي

. إن السيادة الواضحة لمجموعة الابدانيات تتفق مع ما توصل له العديد من الباحثين على سيادة مجموعة الابدانيات في المياه العذبة وقليلة الملوحة تليها الدواليات والقشريات (15، 16). وتتفق مع دراسة (17)، التي تضمنت مسح لبعض انواع اللاققرات المائية في ناظمين مائين في بغداد، كما وتتفق مع دراسة (18)، التي تناولت مجموعة الابدانيات في رواسب ضفاف نهر دجلة في مدينة بغداد حيث سجلت نتائج الدراسة 22 مرتبة تصنيفية. وهذا قد يرجع إلى الانتشار الواسع للابدانيات وقدرتها الكبيرة على تحمل العوامل الفيزيائية والكيميائية، بما في ذلك درجة الحموضة، ودرجة الحرارة، وتركيز الأكسجين، والملوحة. كما لا تتوزع بشكل عشوائي، ولكن تحتل الموائل الصغيرة microhabitats، مثل بضعة سننيمترات مكعبة، ضمن الماء أو بيئة رطبة مثل التربة والغطاء النباتي، والحيوانات (19).

بينت نتائج الدراسة ان هناك تباينا واضحا في بعض العوامل البيئية لمواقع الدراسة (جدول رقم 1). فاختلفت المواقع 6 و 7 و 8 بكونها ذات مياه قليلة الملوحة وعسرة وذلك لكون مصدر المياه فيها من الفيضانات والصرف الزراعي.

شخصت في الدراسة (جدول رقم 2) للمدة من شهر تموز 2015- شهر أيار 2016، 88 وحدة تصنيفية كانت 23 منها تعود إلى مجموعة الابدانيات Protozoa و 4 تعود إلى مجموعة المعكرات Turbellaria و 5 تعود إلى الديدان الخيطية Nematoda و 10 تعود إلى مجموعة الديدان الحلقية Annelida و 20 تعود إلى مجموعة القشريات Crustacea و 8 تعود إلى مجموعة الحشرات Insecta و 10 تعود إلى مجموعة النواع Mollusca. سجلت مجموعة الابدانيات (شكل رقم 1) في الدراسة الحالية اعلى نسبة مئوية مقارنة بالمجاميع الأخرى وصلت الى 42 % من المجموع الكلي للاققرات المائية، تلتها مجموعة الحشرات

جدول رقم (1): قيم بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمواقع الدراسة خلال الفترة من شهر تموز 2015 إلى شهر ايار 2016

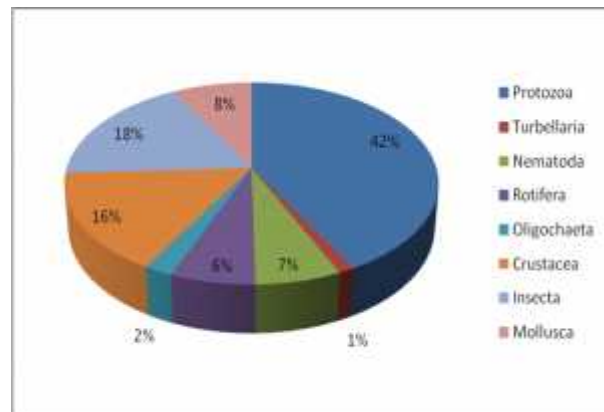
الخاصية	ST 1	ST 2	ST 3	ST 4	ST 5	ST 6	ST 7	ST 8
درجة حرارة الماء	8-30	9-29	9-30	8-29	8-28	9-30	9-29	8.5-29
الأس الهيدروجيني	7.1-7.7	7-7.3	7-7.5	7.4-7.5	7.4-7.6	8-7.6	8.3-7.8	8.7-7.9
العسرة الكلية / ملغم / لتر	233-260	250-300	300-320	300-330	323-400	2300-3600	3500-5300	3500-6200
الملوحة / جزء في الألف	0.49-0.98	0.50-0.97	0.64-0.98	0.55-0.98	1.3-0.98	3.3-5.4	5.4-9.4	5.3-14.4

جدول رقم (2): عدد أفراد اللاققرات المائية في بعض المسطحات المائية في واسط خلال الفترة من شهر تموز 2015 إلى شهر ايار 2016

الوحدات التصنيفية	مواقع الدراسة										الوحدات التصنيفية
	7	6	5	4	3	2	1				
8	المجموع	عدد الانواع	قيمة LSD								
Protozoa	537	576	427	341	317	1523	1828	403	5952	23	137.5 *
Turbellaria	25	30	19	33	26	17	0	24	174	4	19.33 *
Nematoda	180	107	151	89	113	98	15	156	909	5	42.64 *
Rotifera	119	164	144	117	134	142	17	69	906	8	25.77 *
Annelida	26	58	52	50	50	34	0	36	306	10	35.09 *
Crustacea	351	260	205	192	185	298	366	403	2260	20	63.82 *
Insecta	280	180	198	218	182	259	842	357	2516	8	102.78 *
Mollusca	284	200	176	150	152	97	0	74	1133	10	62.94 *
المجموع	1802	1575	1372	1190	1159	2468	3068	1522	14156	88	355.81 *
قيمة LSD	52.67*	47.24*	55.09*	39.66*	46.08*	97.52*	74.22*	47.81*	309.44*		

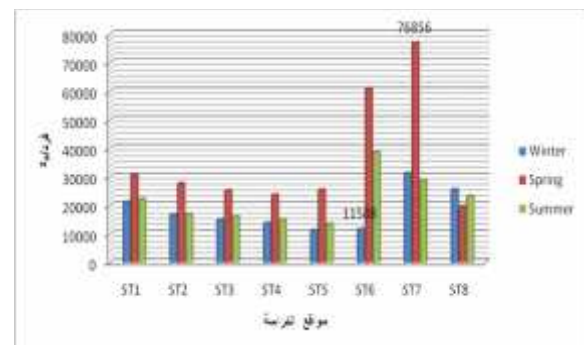
إن التباين الواضح في التوزيع الزمني والمكاني في أعداد و كثافة الأنواع التابعة لللافقاريات المائية يعود إلى تأثيرها في التغيرات بين مواقع الدراسة في خصائصها الكيميائية والفيزيائية والاختلافات في تواجد النباتات والطحالب (21). وهذا ينطبق وبشكل واضح على الاختلافات الواضحة في خصائص مواقع الدراسة (جدول رقم 1). وقد يعزى سبب التغيرات الفصلية في الكثافات الكلية وفي تواجد الأنواع إلى طبيعة دورة حياة كل نوع، فبعض الأنواع تزداد كثافتها في فصل الربيع وبعضها الآخر في أواخر الصيف. وهناك الكثير من اللافقاريات المائية تلجأ إلى إنتاج بيوض ساكنة في الظروف البيئية غير المناسبة لها كما في المعكرات و متفرعة اللوامس، وتعد عوامل توافر الغذاء والتنافس والافتقار مهمة في تنظيم تواجد اللافقاريات المائية (11).

وبالمقارنة مع دراسات أخرى سجلت الدراسة الحالية عدد أنواع أكثر مقارنة بدراسة (22) في هور الدلمج سجلت 78 وحدة تصنيفية وبسيادة مجموعة القشريات، وكانت أعلى من دراسة (23) التي تضمنت تنوعاً لللافقاريات المائية نهر دجلة وديالى. وكانت الدراسة الحالية مقارنة لدراسة (24)، التي سجلت تنوعاً تراوح ما بين 1.76-2.55، وسجلت التغيرات الفصلية للتنوع الإحيائي لللافقاريات القاعية لنهري الديوانية والدغارة ارتفاعاً في أشهر الخريف والشتاء، بينما كانت متذبذبة بين الارتفاع والانخفاض في أشهر الربيع والصيف. أما القيم المسجلة من قبل (25) لمساحات مائية متدرجة الملوحة وسط العراق، فقد أظهرت نتائجها تندياً في تنوع اللافقاريات القاعية في جميع مواقع الدراسة، إذ سجلت الأشهر الحارة أعلى القيم للتنوع البيولوجي في نهر الفرات 29.5، ولوحظ في الوقت نفسه انخفاض في تنوع هذه المجموع في المصب العام 18.2. وهذا بالتأكيد يعود إلى الظروف البيئية المختلفة المواقع الدراسة التي تؤثر بشكل مباشر في توزيع وتركيب مجتمع اللافقاريات، وقد يعود الاختلاف في عدد الأنواع المسجلة في الدراسة الحالية مع الدراسات العراقية الأخرى إلى اختلاف الباحثين في طرق الجمع ووقت ومواقع جمع العينات، والاختلاف في المراتب التصنيفية التي يصلون لها.



شكل رقم (1): النسب المئوية للمنوع المسجلة في بعض المسطحات المائية في واسط خلال الفترة من شهر تموز 2015 إلى شهر ايار 2016

أما فيما يخص التغيرات الموسمية، فقد بين الشكل رقم (2) وجود فروقات معنوية واضحة في تواجد اللافقاريات المائية، وبصورة عامة بدأ واضحاً أن الزيادة في الكثافة الكلية تزامن مع التغير في درجات الحرارة. فاعلى كثافة كلية سجلت خلال فصل الربيع وصلت إلى 76856 فرد/م² في الموقع 7، بينما سجلت أقل كثافة خلال فصل الشتاء بلغت 11588 فرد/م² في الموقع 6. أما الكثافات المسجلة في فصل الصيف كانت مرتبطة بأعداد مجموعة الابتدائيات كونها تواجدت في معظم أشهر الدراسة وازدادت أعدادها بشكل واضح خلال فصل الصيف، بينما اختفت أغلب أنواع اللافقاريات المائية الأخرى خلال الأشهر الحارة من السنة. وهذا يتفق مع دراسة (18) التي أشارت إلى ارتفاع كثافة الابتدائيات خلال الأشهر الحارة من السنة.



شكل رقم (2): التغيرات الفصلية للكثافات الكلية لللافقاريات المائية فرد/م² في بعض المسطحات المائية في واسط خلال الفترة من شهر تموز 2015 إلى شهر ايار 2016

وقد لوحظ اختفاء بعض الأنواع كالأنواع العائدة لمجموعة المعكرات و النواع من الموقع 7. وهذا بالتأكيد يرجع إلى الظروف البيئية المختلفة لمواقع الدراسة التي تؤثر بشكل مباشر في توزيع وتركيب مجتمع اللافقاريات المائية (ملحق رقم 1). ويتضح من نتائج الدراسة أن تواجد اللافقاريات المائية قد تأثر بشكل واضح بدرجات الحرارة ثم توفر المياه والمغذيات و نوعية المياه خلال أشهر الدراسة، فسجلت أعلى الكثافات في الأشهر المعتدلة من السنة والتي تمثلت بفصل الربيع. وقد يعزى ذلك إلى ما توصل إليه (20)، من أن هناك نوعين من المواسم المؤثرة في المسطحات المائية في العراق: الصيف والشتاء، فالصيف يستمر لأكثر من خمسة أشهر من مايو حتى تشرين الثاني، بينما يستمر فصل الشتاء من ديسمبر حتى فبراير. أما الفصول الانتقالية (الربيع والخريف) فهي الأقصر، ولا تستمر لأكثر من شهرين. لذا تعد الحرارة من أكثر العوامل أهمية بالبيئة المائية، فلها تأثيرات عديدة ومتداخلة بشكل مباشر أو غير مباشر على الصفات الفيزيائية والكيميائية والظروف الحياتية للمسح المائي.

المصادر

- Karr JR. (1996). Ecological integrity and ecological health are not the same. National Academy Press, Washington, D.C.
- Karr JR. and Chu EW. (2000). Introduction of sustaining living rivers: Assessing the ecological integrity of running water. Island Press, Washington, D.C.
- Pelegri SP. and Blackburn TH. (1996). Nitrogen cycling in lake sediments bioturbated by *Chironomus plumosus* larvae under different degrees of oxygenation. Hydrobiol. 325: 231-238.
- Crowl TA. and Covich AP. (1990). Predator-induced life history shifts in a freshwater snail. Science. 247: 949-951.
- Scourfield D J. and Harding JP. (1966). A key to the fresh water cladocera with notes on their ecology. 3rd ed., Scientific Population No. 5. Fresh Water Biological Association. P.:54.
- Taqi M A. (2006). Benthic Macro invertebrates in Abu Zirig Marsh, Southern Iraq. Master Thesis. College of Sciences, University of Baghdad.
- Verdonschot PFM. (1989). The role of oligochaetes in the management of water. Hydrobiol. 180: 213-227.
- Milbrink G.; Timm T. and Lundberg S. (2002). Indicative profundal oligochaete assemblages in selected small Swedish lakes. Hydrobiol. 468: 53-61.
- Bat L.; Gonlugur G.; Andac M.; Ozturk M. and Ozturk M. (2000). Heavy metal concentrations in the sea snail *Rapanavenosa* (Valenciennes, 1846)

from Sinop coasts of the Black sea. Turkish J. Mar. Sci. 6:227-240.

10. Duquesne S. and Riddle M.(2002). Biological monitoring of heavy –metal contamination in costal waters of Casey station ,windmill island ,east Antractica . Polar. Biol. 25(3): 206-215.

11. Edmondson WT. (1959). Fresh water biology. 2nd ed. New York, London. John Wiley & Sons, Inc. P.: 1248.

12. Pennak RW. (1978). Fresh water invertebrates of the United States 2nd John Willey & Sons, New York.

13. Richards LA.(1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Handbook, No. 60 Washington. D.C. P.:160.

14. Lind OT. (1979). Hand book of common methods in limnology C.V. Mosby, st. Louis. P.: 199.

15. Mandeville SM. (1997). Zooplankton (of fresh waters). Soil and Water Conservation Society of Metro Halifax. P.: 9.

16. Sinha R. and Sharan L. (2009). Biomonitoring of fresh water body based on algal population diversity. Pos, International, Conference. Tedno. Mitigation. Environ. Poll. Aurangabad. Des. 211-219.

17. سعد الله، حسين علي أكبر ، السلطان ،ابراهيم عزوز ، صالح ،وشاح ناصر . (2012). مسح لبعض انواع اللاقاريات في ناظمين مائيين ببغداد . مجلة جامعة بابل – العلوم الصرفة والتطبيقية. 40 (20): 1353-1341.

18. Kadhimi ZY. and Mahmood SH. (2014). Some protozoan species inhabiting the East Bank sediment of river Tigris in Baghdad City. Iraqi J. Sci. 55(2B): 655-667.

19. Bamforth SS. (1985). Ecology of protozoa. Lawrence,Kansas, Society of Protozoologists. Pp.: 8-15.

20. Al-Áarjy M.J. (1988). An ecological study on phytoplankton and nutrients in Al-Hammar marsh-Iraq. Master Thesis., College of Sciences, University of Basrah. Iraq.

21. Hashemzadeh F. and Venkataramana G. (2012). Impact of physico-chemical parameters of water on zooplankton diversity in Nanjangud industrial area, India. Int. Res. J. Environ. Sci. 1(4):37-42.

22. جوير ،هيفاء جواد ، السراي ، ميسون حسن مشجل. (2015). دراسة بيئية لمجتمع اللاقاريات القاعية في بحيرة الدلمج وسط العراق. المجلة العراقية للعلوم. 25(3): 5203–5255 .

23. الكناني ،داليا محمد علي و المختار ، عماد الدين. (2014). المحتوى العضوي في رسوبيات نهري دجلة وديالى ، جنوب مدينة بغداد وعلاقته مع بعض العوامل البيئية ومجاميع اللاقاريات القاعية وقديم دليل التنوع الأحيائي. مجلة بغداد للعلوم. 11(3):1354-1360.

24. النمرائي، عادل مشعان ربيع. (2005). التنوع الإحيائي للعوالق الحيوانية واللافقاريات القاعية في نهري دجلة والفرات، وسط العراق. أطروحة دكتوراه. كلية العلوم، جامعة بغداد.

25. الربيعي، أسيل غازي راضي. (2001). دراسة بيئية مقارنة للافقاريات لفاع في مسطحات مائية متدرجة الملوحة وسط العراق. رسالة ماجستير، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية.

ملحق رقم (1): قائمة بالتواجد النوعي للافقاريات المائية المسجلة في بعض المسطحات المائية في واسط خلال الفترة من شهر تموز / يوليو 2015 إلى شهر أيار / مايو 2016 (+ موجود و - غير موجود)

		ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8
	Phylum : Protozoa								
1	<i>Arcella</i> sp. Ehrenberg ,1832	+	-	+	+	+	+	-	-
2	<i>Aspidisca</i> sp. Ehrenberg ,1830	+	+	+	+	+	-	+	+
3	<i>Chilodonella</i> sp. Strand ,1928	+	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>Cinetochilum</i> sp. Perty , 1849	+	+	+	+	-	+	+	+
5	<i>Colpoda</i> . sp. Enriques	+	+	+	+	-	+	+	+
6	<i>Eschaneustyla brachytoma</i> Stokes 1886	+	+	+	+	+	+	+	+
7	<i>Frontonia</i> sp. Ehrenberg ,1838	+	+	+	+	+	+	+	+
8	<i>Paramecium Aurelia</i> Ehrenberg ,1838	+	+	+	+	+	+	+	+
9	<i>Paramecium bursaria</i> Ehrenberg ,1833	+	+	+	+	+	+	+	+
10	<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg ,1831	+	+	+	+	+	+	+	+
11	<i>Trichoda pura</i> Ehrenberg 1838	+	+	+	+	+	+	+	+
12	<i>Stentor</i> sp, Ehrenberg	+	+	+	+	+	+	-	+
13	<i>Holosticha vernalis</i> , Stokes 1887	+	+	+	+	+	+	+	+
14	<i>Hastatella radians</i> , Erlanger 1890	+	+	+	+	+	+	-	+
15	<i>Vorticella campanula</i> , Ehrenberg 1838	+	+	+	+	+	+	+	+
16	<i>Trichoda pura</i> , Ehrenberg 1838	+	+	+	+	+	+	+	+
17	<i>Climacostomum virens</i> , Ehrenberg	+	+	+	+	+	+	+	+
18	<i>Spirostomum</i> sp , Ehrenberg 1833	+	+	+	+	+	+	+	+
19	<i>Metopus sigmoides</i> , M'uller 1786	+	+	+	+	+	+	+	+
20	<i>Homostyla elliptica</i> , Conn 1905	+	-	+	+	+	+	+	+
21	<i>Euplotes</i> sp , Ehrenberg 1830	+	-	+	+	+	+	+	+
22	<i>Stylonychia notophora</i> Stokes 1885	+	-	-	-	-	-	-	+
23	Foraminifera	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phylum : Turbellaria								
24	<i>Stenostomum</i> sp Schmidt , 1848	+	+	+	+	+	+	-	+
25	<i>Gyratrix hermaphrodites</i> Ehrenberg ,1831	-	+	+	+	+	+	-	+
26	<i>Macrostomum</i> sp Schmidt 1848	+	+	+	+	+	+	-	-
27	Dalyelliidae , Graff 1905	+	+	+	-	-	-	-	+
	Phylum : Nematoda								
28	<i>Seinura</i> sp , Fusch	+	+	+	+	+	+	-	+
29	<i>Alaimus</i> sp de Man, 1880	+	+	+	+	+	+	-	+
30	<i>Rhabdolaimus</i> sp. de Man	+	-	-	+	+	+	-	+
31	<i>Dolichodorus</i> sp. Cobb	+	+	-	+	+	+	--	+
32	Other Nematoda	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phylum : Rotifera								
33	<i>Rotaria citrinus</i> (weber, 1923)	+	+	+	+	+	+	+	+
34	<i>B.calcyflorus amphecerus</i> pallas ,1766	+	+	+	+	+	+	+	+
35	<i>Dipleuchlanis propalula</i>	+	+	+	+	+	+	-	+

36	<i>Cephalodella aureculata</i> (wulfert ,1938)	+	+	+	+	+	+	+	+
37	<i>Colurella</i> sp Ehrenberg	+	+	+	+	+	+	+	+
38	<i>Philodina</i> sp Hickernell	+	+	+	+	+	+	-	+
39	<i>Monostyle bulla</i> (Hauer, 1952)	+	+	+	+	+	+	+	+
40	<i>Keratella cochlearis</i> Gosse, 1851	+	-	-	-	-	-	-	+
	Phylum : Annelida								
41	<i>Paranaïs</i> sp (Müller, 1773)	+	+	+	+	+	-	-	+
42	<i>Dero (Aulophorus) furcata</i> (Müller, 1773)	+	+	+	+	+	-	-	+
43	<i>Stylaria lactustris</i> (L., 1767)	+	+	+	+	+	-	-	+
44	<i>Limnodrilus hoffmestri</i> Claparède, 1862	+	+	+	+	+	-	-	+
45	<i>L. claparedeianus</i> ,Ratzel, 1868	+	+	-	-	+	-	-	+
46	<i>Tubifex tubifex</i> (Müller, 1774)	-	+	+	+	+	-	-	+
47	<i>Branchiura sowerbyi</i> (Beddard, 1892)	-	+	+	+	+	-	-	-
48	<i>Aeolosoma hemprichi</i> Ehrenberg, 1828	-	-	-	-	+	-	-	+
49	<i>Aeolosoma variegatum</i> , Vejdosky, 1884	-	-	-	-	+	-	-	+
50	Other Annelida	+	+	+	+	+	+	-	+
	Phylum : Crustacea								
	Class : Cladocera								
51	<i>Daphania</i> sp (Müller, 1785)	+	+	+	+	+	+	+	+
52	<i>Bosmia</i> sp Baird 1845	+	+	+	+	+	+	+	+
53	<i>Ceriodiphania</i> sp Dana 1853	+	+	+	+	+	+	+	+
54	<i>Chydorus</i> sp Leach 1843	+	+	+	+	+	+	+	+
55	<i>Ilyocyptus</i> sp Brady and Norman 1889	+	+	+	+	+	+	+	+
56	<i>Alona karua</i> King 1853	+	+	+	+	+	+	+	+
57	<i>Moina affinis</i> Leydig ,1860	+	+	+	+	+	+	+	+
58	<i>Simocephalus sevrulatus</i> Schqdler ,1858	+	+	+	+	+	+	+	+
	Class :Copepoda								
	SubClass :Calanoida								
59	<i>Diaptomus</i> .sp Herrick ,1895	+	+	+	+	+	-	-	+
	SubClass : Cyclopoida								
60	<i>Cyclops</i> sp Müller	+	+	+	+	+	+	+	+
61	<i>Ectocyclops</i> sp. Brady	+	+	+	+	+	+	+	+
62	<i>Paracyclops</i> sp. Claus	+	+	+	+	+	+	+	+
63	Immatur Cylopoida	+	+	-	-	-	-	+	+
	SubClass: Harpacticoida								
64	<i>Nitocra</i> sp.(Brady ,1880)	+	+	+	+	+	+	-	+
65	Nauplii of Copepoda	+	+	+	+	+	+	-	+
	Class :Ostracoda								
66	<i>Cypris</i> sp Zenker 1854	+	+	+	-	-	+	+	+
67	Other Ostracoda	+	+	+	+	+	+	+	+



	Class :Isopoda								
68	Shpaeroma annadaiei annandalei Stebbing, 1911	-	-	-	-	-	-	-	+
	Class :Decapoda								
69	Macrobrachium nipponense (De Haan, 1849)	+	+	+	-	-	-	-	+
70	Class :Amphipoda	+	+	-	-	-	-	-	+
	Insecta								
71	Chironimidae	+	+	+	+	+	+	+	+
72	Culicidae	+	+	+	+	+	+	+	+
73	Zygoptera	+	+	+	+	+	+	+	+
74	Anisoptera	+	+	+	+	+	+	+	+
75	Corixidae	+	+	+	+	+	+	+	+
76	Dysitidae	+	+	+	+	+	+	+	+
77	Hydrophilidae	+	+	+	+	+	+	+	+
78	Other insects larvae	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phylum :Mollusca								
	Class :Gastropoda								
79	Physa acuta Draparnaud,1805	+	+	+	+	+	+	-	+
80	Lymnaea sp (Linnaeus)	+	+	+	+	+	+	-	+
81	Melonoides tuberculata Müller, 1774	-	+	+	+	+	+	-	+
82	Melanopsis costata Olivier, 1804	-	+	+	+	+	+	-	+
83	Melanopsis nodosa Adams, 1854	-	+	+	+	+	+	-	+
84	Theodoxus sp Sowerby,1849	-	-	-	-	-	-	-	+
85	Bellamya bengalensis Lamarck, 1822	+	+	+	+	+	+	-	-
	Class :Bivalva								
86	Pseudodontopsis euphraticus Bourguignat	+	+	+	+	+	+	-	+
87	Unio tigridis Bourguignat	+	+	+	+	+	+	-	-
88	Corbicula sp Müller	+	+	+	+	+	+	-	-

مصدر ... المدينة المستدامة

تحليل علمي لأهم تطبيقات الاستدامة في المدينة ومحاولة توظيفها لتحسين الواقع البيئي لمدينة بغداد

هالة حسين موسى

قسم الشؤون الهندسية / رئاسة جامعة بغداد / جمهورية العراق

hala.hussein.musa.76@gmail.com :  

الملخص باللغة العربية

إن الهدف النهائي المنشود من إعداد هذه الدراسة البحثية هو محاولة الاستفادة من تجربة مدينة صديقة للبيئة ذات طبيعة مناخية مقاربة لطبيعة مناخ مدينة بغداد ، وحيث إن مدينة مصدر التي تقع في دولة الإمارات العربية المتحدة ، هي مدينة ذات مناخ صحراوي حار جاف مقارب لمناخ العراق ، فقد وقع الاختيار عليها للاستفادة من تطبيقات الاستدامة المستخدمة فيها، ومحاولة توظيفها في مدينة بغداد ، وعليه قام البحث بمحاولة لحصر أهم الحلول البيئية التي تم اللجوء إليها لتحسين الواقع البيئي لمدينة مصدر ، للوصول بها إلى الهدف المنشود من إنشائها وهو جعل نسبة الانبعاثات لغاز ثاني أكسيد الكربون والغازات السامة الأخرى الأقل عالمياً، بالإضافة إلى سعي المدينة إلى الاعتماد بشكل تام على مصادر الطاقة المتجددة في إنتاج الكهرباء، وذلك للحد من الاعتماد على الوقود الأحفوري الملوث للبيئة . وكان الوصول إلى هذا الهدف مبنياً على عدد من المبادئ، منها على سبيل المثال لا الحصر اعتماد مبدأ إعادة التدوير من خلال الاستفادة من مخلفات البناء ومحاولة إعادة تدويرها لإنتاج مواد بناء جديدة بمواصفات صديقة للبيئة ، بالإضافة إلى محاولة الاستفادة من مياه الصرف الصحي والنفايات في إنتاج الطاقة الكهربائية، وإنتاج وتجميع غاز ثاني أكسيد الكربون لاستخدامه للأغراض الصناعية، وإنتاج الماء الصافي لأغراض التنظيف والسقي ، ناهيك عن محاولة الاستفادة من الطاقة الشمسية التي تعتبر أحد أهم الموارد البيئية النظيفة في إنتاج الطاقة الكهربائية وتصفية وتعميق المياه لأغراض الشرب، وكذلك لتسخينها للأغراض المنزلية . لقد تم الوصول إلى تلك المبادئ من خلال اعتماد مجموعة من التطبيقات التي تناولها البحث بالتحليل العلمي سعياً وراء استقصاء الحقائق وإدراكاً لضرورة صهر كل العلوم في بوتقة واحدة، خاصة وأن علم التخطيط الحضري هو علم شامل، فهو يتعامل مع كل ما يتعلق بالمدينة وبيئتها، وما ذلك إلا محاولة لوضع الحلول للمشاكل البيئية التي تعاني منها مدينة بغداد ابتداءً من مشكلة تلوث الهواء وصولاً إلى مشكلة شح مياه الشرب، مروراً بمشكلة العجز في معالجة مياه الصرف الصحي والنفايات، بالإضافة إلى مشكلة النقص الحاد في توليد وتجهيز الطاقة الكهربائية . إن كل تلك المشاكل وأكثر ترتب عليها أعباء بيئية كبيرة كان سكان مدينة بغداد هم أول من عانى منها، وقد تكون المؤشرات الصحية الخطيرة التي قام البحث باستعراضها أحد أهم الدلائل على ذلك . وعليه فقد اقترح البحث مجموعة من الحلول لتحسين الواقع البيئي للمدينة من خلال الاستفادة من التطبيقات البيئية المستخدمة في مدينة مصدر.

الكلمات المفتاحية: مدينة مصدر، مدينة بغداد، التخطيط الحضري، الواقع البيئي

Masdar.... The sustainable city

A scientific interpretation of the most important sustainability applications with an attempt for adoption to improve the environmental situation in Baghdad city

Hala H. Musa

Dept. of Engineering Affairs / Headquarter of University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

The present study was conducted to take advantages of the experience of an environment-friendly city with a climate similar to the climate of Baghdad, that was Masdar City, which located in the United Arab of Emirates. The study also tried to make benefit of the sustainability applications that implemented in Masdar City and adopt them in Baghdad. It is an attempt to take the most important environmental solutions that are used to improve the environmental situation of Masdar city by making the emissions of CO₂ and other toxic gases in the lowest levels that are accepted globally. In addition, make the dependence in electricity production on renewable energy sources and reduce the dependence on polluting fossil fuels, that was based on a lot of principles, such as, adoption of recycling principle by making benefit of the construction waste and try to be recycled to produce new environment friendly construction materials, in addition, taking advantage of the sewage and waste to produce electricity and also for collecting the dioxide carbon to reuse it for industrial purposes and finally for the production of water that used for the purposes of cleaning and irrigation, the other principle was taking , advantage of solar energy, for several purposes, such as production of electrical energy, filtering and sterilizing water for drinking purposes , as well as , using solar energy for heating water for domestic purposes. The research reaches to all those principles by adopting an analyzing study for a collection of scientific applications in pursuit of finding facts and recognizing the need to melt all sciences in one pot, especially that urban planning since is a comprehensive science because it dealing with all matters relating to the city and its environment , that's only an attempt to develop solutions for the environmental problems of Baghdad, which that : the problem of air pollution , the problem of the scarcity of drinking water , the problem of the deficit in the wastewater and waste treatment in addition to the problem of acute shortage of generation and providing electricity , all those problems and more resulted the bad environmental situation of Baghdad that reflected Negatively on the health of the people who live in the city and that seems clear in Statistical data. Accordingly, the research has suggested a range of solutions to improve the environmental situation of Baghdad by utilizing from the environmental applications used in Masdar City.

المقدمة

بناء على ما تقدم، كان الهدف الأساسي من إنشاء المدينة هو توفير أعلى مستوى للحياة بأقل مستوى ليصمة بيئية من خلال ما يلي:

- 1- استخدام (100%) طاقة متجددة.
- 2- أن تكون المدينة خالية من النفايات أو من انبعاثاتها.
- 3- أن تكون خالية من استخدام الوقود الأحفوري (Fossil Fuel Free Zone).
- 4- أن يتضمن تصميم الأبنية أفضل وسائل العزل الحراري وأفضل تقنيات تحسين كفاءة استخدام الطاقة في المبنى، فضلاً عن التصاميم الذكية للأبنية (16).
- إن غايمة مدينة مصدر تتمثل باستخدام الماء أقل بنسبة (60%) والكهرباء أقل بنسبة (75%) وفضاءات الطمر الصحي أقل بنسبة (98%) مقارنة بالمدينة الاعتيادية و بنفس الحجم تقريباً (3).

موقع المشروع

تم بناء المدينة على بعد 17 كم جنوب شرقي مدينة أبوظبي وبالقرب من مطار أبو ظبي الدولي (شكل رقم 1). وقد كانت الكلفة التخمينية للمشروع 18 – 22 بليون دولار (4)، حيث تصل المساحة الإجمالية للمدينة إلى 6 كم مربع مخصصة لمختلف استعمالات الأرض التي تحتاجها المدينة (5)، حيث استعمالات الأرض السكنية والتجارية والتعليمية والصناعية .. الخ.

أهم مبادئ الاستدامة البيئية المستخدمة في تصميم وتخطيط المدينة

- بنيت المدينة على أسس إيكولوجية تمثلت بما يأتي:
- التعادل الكربوني (Carbon Neutrality).
- تقليل الطلب على الطاقة.
- الاعتماد على الطاقات المتجددة.
- التشجيع على السير واستخدام الدراجات الهوائية وتقليل استخدام المركبات ذات الاحتراق الداخلي.
- استخدام مبادئ التخطيط للمدينة العربية التقليدية مثل الكثافة العالية والتضام والشوارع الضيقة وغيرها لدمج المدينة مع محيطها الأكبر (6).

لقد تم تصميم المدينة من قبل نخبة من أبرز المهندسين المعماريين التابعين لشركة فوستر وشركاه، حيث عمل المعماري نورمان فوستر على تصميم المدينة بطريقة تعتمد الكفاءة في استخدام الطاقة، ومراعاة البيئة كأولويات رئيسية، فقد سعى إلى إيجاد علاقة ارتباطية بين مدرسة التكنولوجيا الفائقة في العمارة، التي اشتهر بها فوستر، وبين المبادئ التصميمية للمدينة التقليدية، التي تتسم بصفات بيئية مستدامة (4)، حيث قام فوستر بدراسة المدن العربية التقليدية التي حافظت على البيئة الداخلية، وتكيفها مع الحرارة العالية (8). يعتمد تصميم المخطط الأساس للمدينة على المناطق الحضرية المفتوحة، والتداخل مع الطبيعة واستلهاهم روحية المدينة العربية التقليدية، وعناصر التصميم المنفصل والفعال وذلك بتوجيه المناطق على المحور الشرقي - الشمالي الغربي وبزاوية 38 درجة عكس عقارب الساعة من الشمال، بهدف توفير الظل لكافة الطرق طول ساعات النهار لتقليل اكتساب الجدران للحرارة فضلاً عن تدفق تيارات الهواء الباردة لنسيم البحر نحو كافة مناطق المدينة وتوفير الجدران الخارجية لحماية المدينة من العواصف المحملة بالرمال (4) و (9). ولا بد من الإشارة إلى أن فوستر عمد إلى تطوير المبادئ التخطيطية للمدينة العربية محققاً بذلك تخطيطاً بيئياً فيه توازن عال بين البيئة وحياة الإنسان من خلال التالي (10):

- 1- توفير الظل الطبيعي والتبريد بواسطة نسيم البحر.
- 2- العزل وتوفير فضاءات الألواح الشمسية.
- 3- بناء أنظمة السيطرة على الأجهزة.
- 4- استخدام الزجاج المزودج وتثبيت أجهزة التظليل والشبكات لتقليل نفاذ أشعة الشمس، وبالتالي تقليل درجة الحرارة المكتسبة.

لا يخفى على أحد ما تعانيه معظم المدن اليوم وبدرجات مختلفة من أعباء كبيرة ترتبت على طبيعة الحياة العصرية التي اعتمدت وبشكل تام على مصادر الطاقة المشتقة من الوقود الأحفوري، الذي لعب الدور الأكبر في تلوث بيئة المدينة. لذلك جاءت الجهود حثيثة في العقدين الأخيرين للحد من تبعات هذه المشكلة التي بات أثرها واضحاً على سكان المدن حول العالم.

وفي السنوات الأخيرة، بدأت الجهود تتضافر بين مختلف العلوم في محاولة للنهوض بالواقع البيئي المتردي للمدينة، فجاءت مدينة مصدر في إمارة أبو ظبي في دولة الإمارات العربية المتحدة كنموذج عالمي جديد، يسعى إلى توفير بيئة حضرية مستدامة من خلال تقليل الاعتماد على الوقود الأحفوري، وبالتالي تقليل انبعاث غاز ثاني أكسيد الكربون في الجو، كل ذلك بالاعتماد على مجموعة من التطبيقات الصديقة للبيئة التي تسعى من خلالها الباحثون إلى محاولة الاستفادة من كل ما هو متاح في المدينة كاشعة الشمس والنفايات ومياه المجاري والمخلفات الصناعية ... الخ. وتحولها إلى مصادر جديدة لإنتاج الطاقة وإعادة التدوير، وما إلى ذلك من المعالجات التي تصب في النهاية في مصلحة تحسين بيئة المدينة، على أن ذلك كله لم يكن بمعزل عن الثوابت والأسس التخطيطية التي اعتمدت في تخطيط المدينة. وهنا كان هذا التضافر بين علم التخطيط الحضري، وبين باقي العلوم التطبيقية، حيث نتج عن ذلك شكل حضري جديد وصديق للبيئة، ومن هنا أيضاً كان لا بد لنا كباحثين في مجال التخطيط الحضري من الاطلاع عن كثب على التطبيقات العلمية ذات البعد الحضري، وتناولها بالتحليل العلمي، ومحاولة فهمها للتعرف على أثرها المكاني ضمن المحيط الحضري، وكذلك على أثرها البيئي على المدينة ككل.

بناء على ما تقدم، فقد جاء البحث ضمن ثلاث محاور رئيسية تحدث في أولها عن مدينة مصدر من خلال التعريف بالمدينة أولاً، وبعدها التعرف على أهم الحلول التصميمية لتطبيقات الاستدامة المستخدمة في المدينة، والتي يتناولها البحث بالتحليل العلمي في محوره الثاني الذي يستعرض فيه عدد من التطبيقات العلمية التي قام بعداد منها مجموعة من الباحثين في قسم الهندسة الكيميائية في الجامعة الأمريكية في الشارقة وبالتعاون مع معهد مصدر للعلوم. وقد تم اختيار تلك التطبيقات بعناية كونها تمثل حلولاً عملية للكثير من المشاكل البيئية التي تعاني منها مدينة بغداد والتي تم استعراضها في المحور الثالث من البحث، حيث قدم البحث أخيراً مجموعة من المقترحات لتحسين الواقع البيئي لمدينة بغداد بناء على ما تم استعراضه من تطبيقات علمية صديقة للبيئة تم اعتمادها فعلاً في مدينة مصدر.

المحور الأول: استعراض لمدينة مصدر

تعريف بالمدينة

الهدف

يهدف المشروع إلى إقامة مدينة يكون انبعاث غاز ثاني أكسيد الكربون فيها إلى أقل مستوياته، وكذلك إلى أقل نسبة إنتاج للنفايات، حيث شرعت حكومة أبو ظبي في العام 2006 بالقيام بإنشاء مدينة تعتمد كلياً على مصادر الطاقة المتجددة، وتسعى إلى تصفير نسبة انبعاث الكربون بما يقارب 15 ألف طن من وفورات الكربون السنوية (1)، كما تحاول المدينة أن تكون الأولى عالمياً في مجال الأبنية الصديقة للبيئة إضافة إلى احتضانها إلى معهد مصدر للعلوم والتكنولوجيا، والذي تسعى من خلاله إلى أن تكون رائدة في مجال التكنولوجيا المستدامة، واستثمار جهود الباحثين في هذا المجال في تحقيق أهداف الاستدامة البيئية للمدينة (2)، حيث تعد مدينة مصدر بمثابة مركز تجارب وأبحاث واسعة النطاق لتقنيات الطاقة المتجددة التي يعمل عليها معهد مصدر للعلوم، إذ يأتي الدعم والتسهيلات من حكومة أبو ظبي لبلوغ هذا الهدف، وجعل مدينة مصدر رائدة في التنمية المستدامة من خلال توفير موارد البحث. فقد قام المعهد وبالتعاون مع معهد ماساتشوستس باستقطاب الباحثين لاستخدام مدينة مصدر مختبراً كبيراً ومفتوحاً لتجارب وأبحاث تطوير تقنيات المستقبل (1).

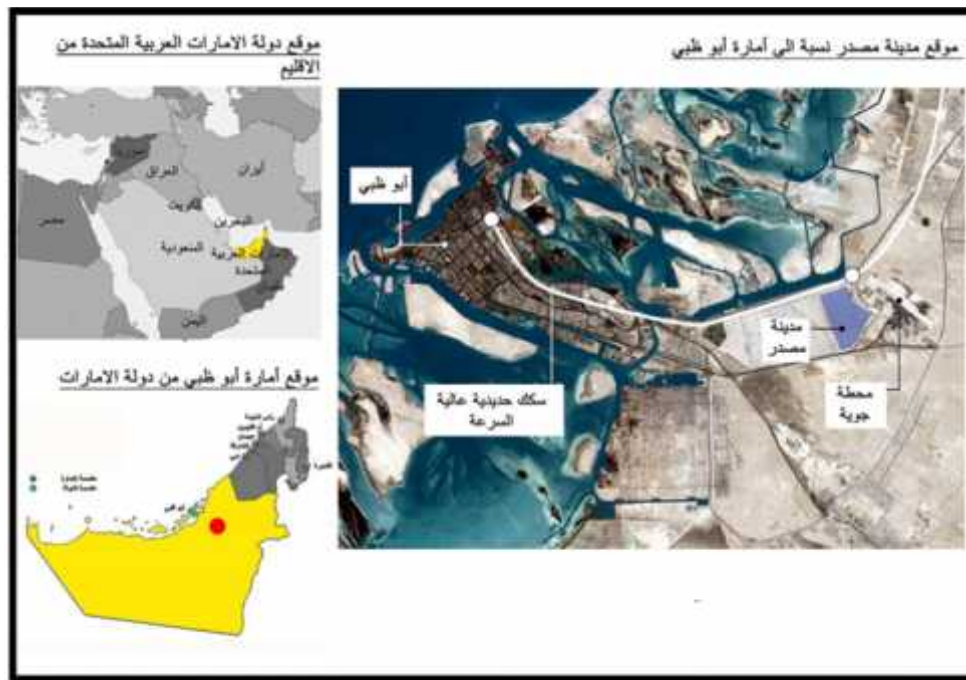
إضافة إلى ما تقدم، فقد كانت الكثافة الحضرية واحدة من المقاييس الأساسية للاستدامة في مدينة مصدر، حيث إن الكثافة لها الأثر البالغ في تقليل الطلب على الطاقة بسبب محدودية إمكانية إنتاج الطاقة المتجددة من المصادر المتجددة. لذلك كانت الخطوة الأولى هي تقليل الطلب على الطاقة من خلال التأقلم المحلي الطبيعي. إذ إن تقليل استهلاك الطاقة لا يمكن أن يُحل من خلال حلول تقنية فقط، إنما يتطلب إعادة التفكير بنمط الحياة. وهذا يعني تغيير السلوك اليومي والمتعلق بالحركة واستهلاك الطاقة والماء والمواد وإنتاج النفايات (12).

بناء على ذلك، فقد لجأت الجهة المصممة للمدينة إلى اتباع مجموعة من الحلول التقنية المستدامة التي يمكن من خلالها تحقيق مبادئ الاستدامة البيئية والتي تعد الهدف الأساس من إنشاء المدينة.

5- إحاطة المدينة بحزام أخضر يرسم حدوداً طبيعية للمدينة مانعاً إياها من أي عمليات توسع مستقبلي غير مدروسة، مما سيساعد في الحفاظ على صورتها البيئية المستدامة.

6- اشتمل تصميم البنى الارتكازية الخضراء في هذه المدينة على دراسة مفصلة لكل محتوياتها بما في ذلك ارتفاع الأشجار والنباتات، وحجم التظليل أسفلها، كما اعتمد اختيار نوع النباتات على قابليتها التكيفية للاستمرار في مناخ صحراوي حار، وفي تربة مالحة وقليلة المياه. تتناسب خلال هذه الحدائق الخضراء مساحات وجدول مائية تمتد بموازاة الاتجاه الرئيس للمدينة (11).

كل ذلك كان بهدف الوصول إلى بيئة داخلية (ضمن الوحدة البنائية) وخارجية (ضمن المحيط الحضري ككل) مريحة وبالتالي تقليل الاعتماد على وسائل التكيف الاصطناعية وما لها من أثر بيئي سيء على المدينة وسكانها.



شكل رقم (1): موقع مدينة مصدر من دولة الامارات العربية المتحدة ومن إمارة أبوظبي حيث تقع هذه المدينة في قلب صحراء إمارة أبو ظبي بالقرب من خط السكك الحديدية العامة لها <http://www.2daydubai.com>

عمليات البناء عن طريق إعادة تدوير تلك المخلفات، إذ يتم نقلها إلى مواقع معينة لإعادة تدويرها حيث يقع مركز المعالجة، الذي تبلغ مساحته (12) هكتاراً، ويتم تحويل (96%) من مخلفات البناء إلى مواد تستخدم في عمليات البناء الثانوية في المدينة. كما تتبع مدينة مصدر نظام جمع النفايات بعملية الشفط، حيث يتم جمع القمامة وإرسالها إلى موقع جمع النفايات عن طريق الأنابيب المفرغة، فيتم هناك فرز المخلفات وإعادة تدويرها، أما تلك التي لا يمكن تدويرها فتستخدم في إنتاج الطاقة من الغاز المنبعث من النفايات (13) ويتم أخيراً تحويل الفائض إلى مواد بناء (15). كل ذلك يتم بالاستعانة بأحدث ابتكارات معالجة النفايات المستخدمة في المدن المستدامة، وهذا ما سوف يتناوله المحور الثاني بالتفصيل.

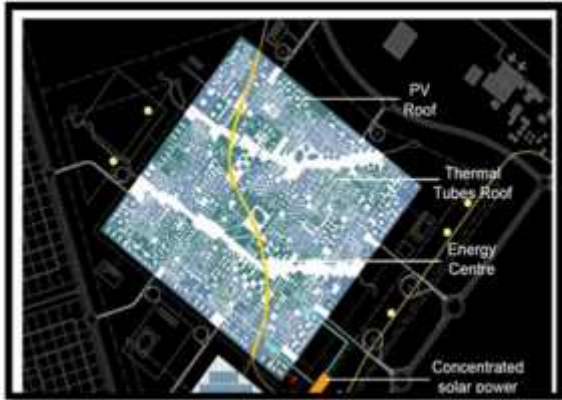
3- مصادر الطاقة المتجددة في مدينة مصدر: حيث إن من أحد الأهداف الأساسية لإنشاء مدينة مصدر هو الاعتماد الكلي على مصادر الطاقة النظيفة في إنتاج الطاقة الكهربائية، فقد أولت الجهة المصممة للمشروع هذا الجانب اهتماماً خاصاً، حيث تم توفير (22) هكتاراً لتكوين حقل الألواح الشمسية المؤلف من (87777) لوحاً لتوليد الطاقة المتجددة، إذ تشكل الطاقة المتجددة نسبة (100%) من الطاقة التي تستهلكها مدينة مصدر (1). وقد تم

ثانياً: أهم الحلول التصميمية لتطبيقات الاستدامة قيد البحث

1- شبكة المياه في مدينة مصدر (مياه شرب + المياه الرمادية + مياه الصرف الصحي): تسعى مدينة (مصدر) لتحقيق استدامة وترشيد استهلاك المياه، ذلك كونها تقع ضمن منطقة صحراوية ذات درجات حرارة عالية، و لافتقارها للموارد المائية، حيث تعتمد المدينة على محطة تحلية تعمل بالطاقة الشمسية لتوفير حاجتها من المياه (13). لقد تم التخطيط لإدارة استخدام المياه في المدينة بطريقة بيئية متقدمة، حيث يتم إعادة تدوير (80%) تقريباً من المياه المستخدمة، و مياه الصرف الصحي، لإعادة استخدامها لأغراض مختلفة (14)، إذ تستخدم المياه المعالجة في تنظيف الحمامات وري النباتات وما إلى ذلك، كما يتم معالجة مياه الصرف الصحي وتحويلها إلى فود متجدد جاف لتوليد الطاقة الكهربائية (15). وستتناول البحث الثاني كيفية الوصول إلى هذا الهدف من خلال التحليل العلمي لأهم التطبيقات البيئية المتبعة في هذا المجال.

2- معالجة وإعادة تدوير النفايات (نفايات المنازل + مخلفات البناء): تسعى مدينة مصدر إلى تقليل المخلفات الناتجة عن

الجدران أو ضمن الفضاءات المفتوحة، حيث تعمل هذه الألواح على تغطيتها جزئياً لتوفير الظل. ومن هنا يظهر لنا جلبها الأثر الكبير لتلك التطبيقات في تحديد الشكل العام للمدينة ككل (شكل رقم 3).



شكل رقم (3): مخطط مدينة مصدر موضحاً فيه منظومات انتاج الطاقة من المصادر المتجددة <http://web.mit.edu>

وخلصنا لما تقدم في المحور الأول من هذه الدراسة، فقد سعت مدينة مصدر إلى التحول من المعالجات التخطيطية والتصميمية السلبية إلى المعالجات الإيجابية، وكان ذلك من خلال الجمع بين الحلول البيئية للمدينة التقليدية وبين التقنيات الحديثة على مستوى الإنشاء وعلى مستوى التطبيقات المستدامة. لذلك يعد تصميم المدينة نموذجاً موحداً نحو التحول للمدينة المستدامة بشكلها الأمثل الملائم للأجواء الحارة ومنها الدول العربية (16). إن استخدام تطبيقات الاستدامة يمكن المدينة من الحد من انبعاثات غاز ثاني أكسيد الكربون، وترشيد استخدام المياه والحصول على أفضلها بالاعتماد على مصادر الطاقة النظيفة، إضافة إلى تقليل التلوث البيئي الناجم عن عمليات معالجة النفايات واعتماد مبدأ إعادة التدوير في استخدام مخلفات البناء ومياه الصرف الصحي والنفايات. بمعنى أن مدينة مصدر هي مدينة مستدامة على جميع المستويات (شكل رقم 4).

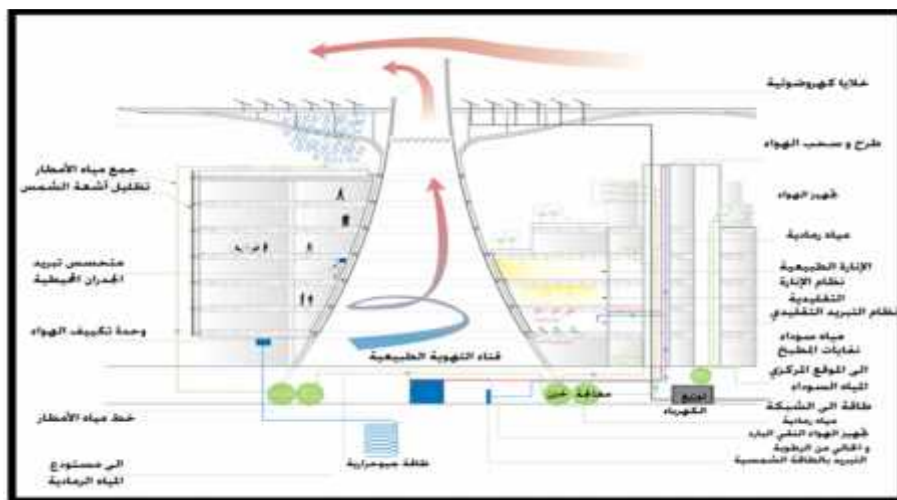
تخطيط المدينة بطريقة وفرت فيها فضاءات خاصة لمنظومات الطاقة الشمسية داخل وحول المدينة، هذا بالإضافة إلى محطات الطاقة الجيوحرارية ومحطات توليد الطاقة من النفايات ومياه الصرف الصحي (16)، كما تتميز المدينة بإنشاء حقول الطاقة الشمسية المركزة (CSP) (Concentrated Solar Power). إن أهم مصادر الطاقة النظيفة التي تعتمد عليها المدينة هي (شكل رقم 2)، (1):

- ألواح الطاقة الشمسية (photo - voltaics).
- الطاقة الشمسية المركزة (concentrated solar power).
- الطاقة الجيوحرارية (geothermal power).
- الأنابيب المفرغة لجمع الحرارة الشمسية (solar thermal evacuated tube collectors).
- معالجة النفايات ومياه الصرف الصحي وتحويلها إلى طاقة (processing waste to energy).
- محطات لتتركيز الأشعة الشمسية لإنتاج الماء الساخن الذي يمكن الاستفادة منه للأغراض المنزلية ولأغراض التكييف (التدفئة والتبريد).



شكل رقم (2): نسب إنتاج الطاقة من المصادر المتجددة في مدينة مصدر <http://www.rpd-mohesr.com>

نلاحظ مما تقدم أن الطاقة الشمسية هي المصدر الأساس للطاقة الكهربائية المستخدمة في المدينة، وبناء على ذلك، فقد شكلت تلك التطبيقات أساساً في أي قرار يتخذه المصمم، سواء كان ذلك على المستوى التصميمي للوحدة البنائية، أو على مستوى تخطيط المدينة ككل. إذ يتم تثبيت ألواح الخلايا الشمسية على سطوح الأبنية وعلى



شكل رقم (4): مقطع توضيحي لأحد أبنية المدينة يوضح أهم حلول الاستدامة البنية في المدينة (1)

(شكل رقم 5). ويمتاز سندويش البلوك والكونكريت بعازليته الحرارية الممتازة مما يساعد على خفض تكاليف الطاقة اللازمة للتبريد أو التدفئة وبالتالي تخفيض تكلفة الكهرباء بحوالي 40% ، حيث إن معامل التوصيل الحراري للمنتج 0.59 واط/متر درجة مئوية، بينما يبلغ معامل التوصيل الحراري للطابوق الأحمر الفخاري 0.144 واط/متر درجة مئوية (18) ، أي أن هذا المنتج يعزل أربعة أضعاف الطابوق الأحمر الفخاري، كما أنه أفضل عزلاً بعشرة مرات من الخرسانة التقليدية، الأمر الذي يساعد على توفير بيئة مريحة داخل المبنى .

ويبقى الهدف الأهم الذي تم الوصول إليه هنا هو مبدأ إعادة التدوير واستغلال مخلفات البناء في إنتاج مواد بنائية جديدة وصديقة للبيئة يمكن لها المساعدة في إنتاج وحدات بنائية صديقة للبيئة تسهم بدورها في خلق محيط حضري صديق للبيئة أيضاً.



شكل رقم (5): البلوك المركب العازل للحرارة (17، ص 23)

2. إنتاج الطاقة الكهربائية من مياه الصرف الصحي وإنتاج المياه الصالحة للسقي كمرحلة ثانية

وهي تقنية تعمل على معالجة مياه الصرف الصحي بما يعرف (خلية الوقود الميكروبية) وهي ببساطة عبارة عن مفاعل حيوي يعمل على تحويل طاقة الروابط الكيميائية للمركبات العضوية الموجودة في مياه الصرف الصحي إلى طاقة كهربائية، حيث تتولى البكتيريا الموجودة فيها هذه المهمة من خلال قيامها بكسر تلك الروابط، كما يتم في مرحلة لاحقة تصفية المياه الثقيلة والتخلص من المخلفات الصلبة وإعادة استخدامها كماء للسقي (شكل رقم 6).

ويأتي المحور الثاني ليستعرض عددا من تطبيقات الاستدامة المفيدة المستخدمة في مدينة مصدر من خلال التحليل العلمي لآلية عمل كل منها لغرض التعرف على إمكانية الاستفادة منها في تحسين الواقع البيئي لمدينة بغداد.

: تحليل هم تطبيقات

1. البلوك المركب العازل للحرارة

يعتبر مبدأ إعادة التدوير أحد أهم مبادئ الاستدامة في مختلف المجالات وخاصة في قطاع الإنشاء، فهناك الكثير من المخلفات الإنشائية سواء تلك التي تنتج في مرحلة التصنيع للمادة البنائية أو في مرحلة إنشاء المبنى أو حتى في مرحلة الهدم بعد انتهاء عمر المبنى. وقد سعى الباحثون في هذا المجال إلى الاستفادة من تلك المخلفات لإنتاج مواد بنائية جديدة بقابليات إنشائية وبنائية مطورة . ويعتبر البلوك المركب أحد هذه المنتجات التي أثبتت كفاءة عالية في العزل الحراري، وكذلك في إنشاء الجدران الحاملة للأوزان كونه مكوناً من مادتي الترمستون والكونكريت المسلح حيث تمتاز مادة (الترموستون) ويرمز لها اختصاراً (AAC) بكونها مادة بنائية صديقة للبيئة وهي معروفة بأنها مادة عازلة للحرارة والصوت كما أنها مادة بنائية خفيفة الوزن، مما يعمل على تقليل استهلاك الطاقة أثناء عملية الإنشاء وحتى بعد إشغال المبنى (17) . تساعد خفة وزن هذه المادة على تقليل الأحمال الميتة على المبنى، مما يقلل من أحجام الأعمدة وكمية حديد التسليح المستخدم فيها، وبالتالي يقلل من كلفة المادة الأولية والأيدي العاملة.

يتم إنتاج مادة (AAC) من خليط (الإسمنت ، الجير ، الرماد المتطاير ، الرمل ، مسحوق الألمنيوم والماء) بنسب معينة لتحقيق الكثافة اللازمة لتوفير العزل الحراري الجيد، حيث إنه يتناسب عكسياً مع الكثافة. فكلما قلت الكثافة زاد العزل الحراري، في حين إذا زادت الكثافة عن 500 كغم / متر المكعب فإن العزل الحراري الفعال لا يتحقق (18). ومع ذلك تبقى هناك مشكلة كبيرة فيما يتعلق باستخدام مادة (AAC) في الهياكل العالية وهي انخفاض مقاومتها للضغط وقوة القص على عكس الخرسانة التقليدية، حيث تتراوح مقاومة إجهاد القص لها من 8-22 رطلاً، وقوة الضغط من 300-900 رطلاً، بينما تبلغ مقاومة إجهاد القص للخرسانة التقليدية 40 رطلاً، مع قوة الضغط 1500 رطلاً . بالمقابل تعتبر الخرسانة المسلحة وعلى العكس من مادة الترموستون مادة بنائية ذات سعة حرارية قليلة، لذلك جاء هذا الربط بين المادتين للاستفادة من مزاياهما وتقليل السلبيات البيئية والإنشائية لكل منهما (17)، حيث تم التوصل إلى نموذج لطابوقة حاملة للأوزان تكون عبارة عن سندويش مكون من الترموستون والكونكريت للاحتفاظ بالخصائص البيئية للترمستون وتقويته بمادة الكونكريت من خلال إحاطة الترموستون بشبكة معدنية لتقوية ربطه بالكونكريت. وقد كانت النتيجة مدهشة وتم اعتمادها كأحد الحلول البيئية في مدينة مصدر



شكل رقم (6): مراحل عمل خلية الوقود الميكروبية (19)

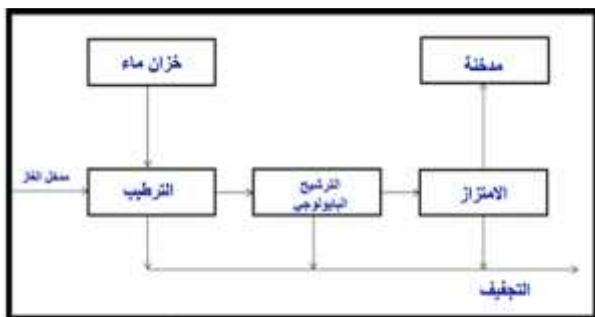
ومحطات تجميع ومعالجة المياه الأسنة أكثر المناطق إصدارا للغازات السامة والملوثة للبيئة، والتي منها على سبيل المثال (21):

- 1- غاز الميثان الذي ينتج بنسبة 45 - 60 %.
- 2- غاز ثاني أكسيد الكربون 40 - 60 %.
- 3- الأمونيا 0.1 - 1 %.
- 4- كبريتيد الهيدروجين 0 - 1 %.

وتختلف نسب إنتاج الغازات السامة تبعاً لما يلي (22):

- تكوين النفايات : فكلما زادت نسبة المواد العضوية في النفايات زاد التحلل البكتيري.
- نسبة الأوكسجين : فزيادة نسبة الأوكسجين يزداد نشاط البكتيريا الهوائية التي تعمل على تحليل النفايات وبالتالي إنتاج غاز الميثان والغازات السامة الأخرى.
- مقدار المحتوى المائي : فزيادته يزداد نمو البكتيريا وبالتالي يزداد إنتاج الغازات السامة.
- درجة الحرارة : حيث يرتفعها يزداد النشاط البكتيري وبالتالي زيادة في إنتاج الغازات السامة.
- عمر النفايات : حيث إن النفايات الحديثة تكون أكثر إنتاجاً للغازات السامة من النفايات القديمة.

ولا يخفى على أحد مدى الآثار السلبية للغازات السامة على صحة الإنسان حيث إن التعرض لتركيزات منخفضة يمكن أن يؤدي إلى تهيج العين، والتهاب الحلق والسعال، وضيق في التنفس، وتكون السوائل في الرئتين. أما التعرض لهذه الغازات على المدى الطويل، فقد يؤدي إلى التعب، وفقدان الشهية، وشلل في العصب الشامي ثم إلى فقدان حاسة الشم والاختناق مما يؤدي إلى الوفاة. تكمن ميزة هذا التطبيق في كونه غير مكلف، وصديقاً للبيئة، حيث يتم تنفيذ المعالجة في درجة حرارة المحيط، لذلك جاء هذا التطبيق ليحل هذه المشكلة من خلال استخدام عملية من ثلاث مراحل هي (21) (شكل رقم 9):



شكل رقم (9): مراحل عملية معالجة مياه الصرف الصحي (21)

- 1- الترطيب : ويتم فيها إيجاد بيئة رطبة مناسبة لنمو البكتيريا وذلك من خلال بخ الماء على النفايات في برج خاص لهذا الغرض.
 - 2- الترشيح البيولوجي : من خلال إضافة "وسط خاص ببايولوجي معد ومعالج" يعمل على إزالة معظم الغازات المنبعثة من النفايات.
 - 3- الامتزاز : وهو "تجمع مادة ما على أسطح جزيئات مادة مازة" بهدف الوصول إلى عملية التبادل الأيوني أو ما يعرف بالادمصاص ويتم في هذه المرحلة إزالة آثار الغازات السامة حيث يستخدم فيها الكربون المنشط كعامل مكثف وذلك لقدرته العالية على امتصاص غاز (H₂S) والمركبات العضوية المتطايرة.
- إن المراحل الثلاثة مجتمعة توفر القدرة على إزالة الغازات السامة من النفايات بنسبة 99% إضافة إلى إنتاج الماء الذي يمكن إعادة تدويره وإنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون الذي يمكن تجميعه والاستفادة منه للأغراض الصناعية (22) (شكل رقم 10).

ومن أهم مزايا المعالجات الحيوية (20):

- 1- إنتاج الكهرباء مباشرة.
 - 2- لا تحتاج إلى تهوية (حيث إن التهوية في محطات توليد الكهرباء التقليدية يمكن أن تستهلك 50% من الطاقة الكهربائية المستخدمة في محطة المعالجة).
 - 3- إنتاج أقل للمخلفات الصلبة لمياه الصرف الصحي للمخلفات الصلبة لمياه الصرف الصحي.
 - 4- تقليل انبعاثات الروائح الكريهة والغازات السامة.
- ويوضح الشكل رقم (7) مقدار ما يمكن توفيره من الطاقة الكهربائية وبالتالي من المال من وحدة المعالجة، حيث يمكن توفير 75% من احتياجات المبنى من الكهرباء بواقع إنتاج 33 كيلو واط لليوم الواحد ومعدل توفير سنوي في دولة الإمارات العربية يصل حتى 82000 درهماً إماراتياً، أي ما يقارب (23000 دولاراً أميركياً، حيث إن سعر الكيلوواط/ساعة = 0.3 درهماً إماراتياً، فيما عدا الأرباح والفوائد المستحصلة من استخدام الماء الناتج عن عملية المعالجة لأغراض السقي والتنظيف (19). إن هذه التقنية يمكن استخدامها لإنتاج الطاقة الكهربائية ضمن محطة معالجة وليس على مستوى المدينة ككل، وعليه فمن الممكن توفير محطة معالجة خاصة بكل وحدة بنائية لتقليل إنتاج المياه الثقيلة في المدينة وأيضاً للاستفادة منها في توليد الطاقة الكهربائية ومياه السقي للمبنى (شكل رقم 8).

Savings and COD removal Analysis	
Flow rate of Domestic Waste Water From AUS	1000 m ³ /day
Water Content	99%
COD Inlet to MFC	246 $\frac{mg}{L}$
Energy/g COD	14.7 KJ/g-COD
COD Outlet of MFC	51.66 $\frac{mg}{L}$
Cost Electricity in Sharjah	0.30 AED/KW-h
Efficiency of MFC	75%
Power Generated	33kW
Money Saved/yr	AED 82000

شكل رقم (7): مقدار ما يمكن توفيره من المال (بالدرهم الإماراتي) من وحدة المعالجة في خلية الوقود الميكروبية (19)



شكل رقم (8): محطة معالجة مياه الصرف الصحي حيث يمكن توفير غرفة خاصة لها في المبنى كونها صغيرة الحجم (20)

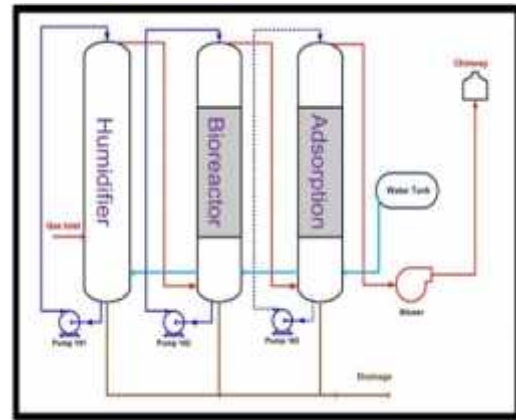
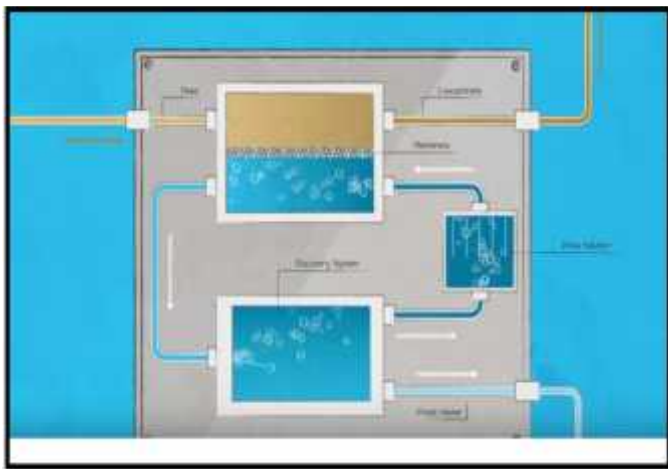
3. التقليل من انبعاثات الغازات السامة في مكبات النفايات ومياه الصرف الصحي

يتناول هذا التطبيق الحل المثالي لمعالجة مشكلة انبعاث الغازات السامة الخطرة من مكبات النفايات ومياه الصرف الصحي والتي تعتبر من أهم أسباب التلوث البيئي، حيث تعد مكبات النفايات

إلا أن معالجة المياه هي أهم استخداماتها ، وتمتاز هذه التقنية بكونها اقتصادية وأقل كلفة خاصة في حال تم استخدامها على مستوى واسع، فهي لا تستهلك الكثير من الطاقة في عملية المعالجة، حيث يتم تشغيل نموذج النظام باستخدام أحد أشكال الطاقة البديلة مثل الشمس أو الرياح أو الطاقة الكهرومائية أو الطاقة الحرارية لبطان الأرض، أو أنواع الوقود الحيوي أو خلايا الوقود وغيرها.

في التناضح الأمامي، تعتمد قوة التشغيل على درجة تدفق الضغط التناضحي ، حيث يتم تصميم محلول السحب ذي التركيز المرتفع ليعمل على دفع مرور المياه خلال غشاء خاص يساعد على فصل مياه التغذية عن الذوائب المعدنية لإنتاج مياه نقية منزوعة المعادن ، ليعود جزء من المياه النقية إلى محلول السحب مرة أخرى وهكذا تستمر العملية.

وبوضح الشكل رقم (12) آلية عمل هذا التطبيق والذي يمكن توفيره على شكل محطات معالجة تتوزع في أماكن مدروسة في المدينة.



شكل رقم (10): إنتاج الماء وغاز ثاني أوكسيد الكربون كمنتج جانبي من معالجة مياه الصرف الصحي (22)

إن محطة معالجة من هذا النوع تمتاز بكونها متحركة (شكل رقم 11)، لذلك يمكن توفيرها في مناطق تجمع النفايات وكذلك في مناطق معالجة مياه الصرف الصحي المحددة مسبقاً على المخطط الأساس للمدينة. وبالتالي لا بد من التفكير المسبق بتوفير الأماكن المخصصة لمثل هذه المحطات وذلك بهدف تقليل التلوث البيئي في المدينة.



شكل رقم (11): محطة معالجة مياه الصرف الصحي والتي تمتاز بكونها متحركة (21، ص 48)

شكل رقم (12): عملية تصفية الماء باعتماد تقنية FO (23)

5. تقنية استحصال غاز ثاني أوكسيد الكربون من الجو باستخدام الطحالب

يعتبر غاز ثاني أوكسيد الكربون من الغازات المسببة للاحتباس الحراري، الأمر الذي يؤدي إلى ارتفاع درجة حرارة الأرض، إضافة إلى أنه مصدر للأمطار الحمضية ذات الأثر البيئي السيء على مختلف أشكال الحياة على الأرض وكذلك على الأبنية وغيرها (24). ولكن يبقى لهذا الغاز عدة فوائد عملية، حيث إنه:

- مادة خام للكثير من الصناعات.
- مفيد في عمليات استخلاص النفط.
- مهم في صناعة مطافئ الحريق.
- مهم في خدمات التبريد.

4. تقنية التناضح الأمامي (23)

تعتبر تقنية التناضح الأمامي أو ما يرمز لها اختصاراً (FO) من أحدث التقنيات العالمية التي لها تطبيقاتها العديدة في مختلف المجالات مثل:

- 1- تحلية المياه المالحة
- 2- تجهيز الأغذية
- 3- معالجة مياه الصرف الصحي
- 4- توليد الطاقة.

المناسبة لنموها (الضوء، المواد الغذائية غير العضوية، درجة الحرارة المناسبة، درجة الحموضة (pH) المناسبة، الماء) (25) (شكل رقم 13).

لذلك سعت البحوث والدراسات إلى إيجاد حل لمشكلة تزايد نسبة هذا الغاز في الجو من خلال جمعه والاستفادة منه لأغراض صناعية لاحقاً ، فجاء التطبيق الذي اعتمد على الطحالب كمادة أولية في جمعه من الجو عن طريق وضعها في أنابيب زجاجية وتوفير البيئة



شكل رقم (13): صورة لمجموعة من الوحدات الزجاجية الطحلبية (25)



شكل رقم (15): نموذج لأنبوب زجاجي طحلي موضوع في أحد أرفصة المدينة (26)

إن توفير الظروف الملائمة لنمو الطحالب يساعدها على القيام بعملية البناء الضوئي وبالتالي على سحب غاز ثاني أكسيد الكربون من الجو. وقد تم اختيار الطحالب كمادة أساسية في جمعه لكونها رخيصة ويمكن زراعتها بسهولة ، ولأنها لا تشكل أي خطر على البيئة إضافة إلى إمكانية استخدام الكتلة الحيوية الفائضة عن الحاجة "والناتجة عن عملية نموها" لأغراض أخرى مثل توليد الوقود الحيوي (24). والشكل رقم (14) يبين أفضل أنواع الطحالب في عملية جمع غاز ثاني أكسيد الكربون في أكثر الأماكن توثراً وهي (يوكليينا تراسيليس)، حيث لها القدرة على النمو في الأوساط الحامضية إضافة إلى قابليتها على النمو في درجات الحرارة المعتدلة وكفاءتها العالية في سحب غاز ثاني أكسيد الكربون للقيام بعملية البناء الضوئي والتي تتجاوز نسبة 100% (25). ان البعد الحضري لهذا التطبيق يكمن في إمكانية استغلاله كاحد العناصر الجمالية ضمن المشهد الحضري للمدينة هذا بالإضافة إلى بعده البيئي في تنقية الجو من غاز ثاني أكسيد الكربون وكما هو موضح في الشكل رقم (15).

6. تسخين المياه بالطاقة الشمسية أو أنظمة التدفئة المائية

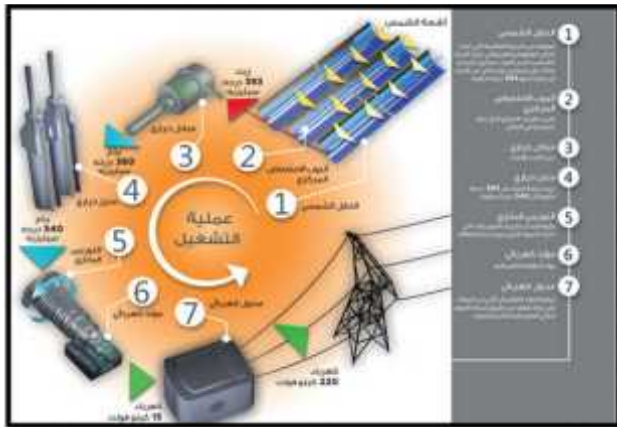
وهي تقنية تعمل على تسخين المياه من خلال مجمعات لاشعة الشمس حيث يمكن الاستفادة من هذه المياه الساخنة لأغراض الاستخدام المنزلي كالتنظيف والغسيل أو لأغراض التدفئة وأحياناً تستخدم لتوليد الطاقة الكهربائية أو تجفيف المحاصيل الزراعية . وقد شاع استخدام هذا النوع من السخانات والمدافئ في المنازل مؤخراً كما أصبحت تنتج حسب درجات الحرارة المطلوبة للمياه ، وهذا يعتمد على قدرة السخان الشمسي وتصميمه، وكما يلي (27):

- 1- دافئة أقل من 50 درجة مئوية لحمامات السباحة.
- 2- ساخنة بين 60-80 درجة مئوية للاستعمال المنزلي
- 3- مغلية للحصول على البخار لغرض توليد الطاقة الكهربائية.

الميزات	كفاءة التقاط غاز CO ₂	أعلى درجة حرارة	نوع الطحلب
قليلة عالية في تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون	Up to 70 %	15 – 27 °C	Chlorococcum sp.
تعمل بالقدرة على النمو في درجات الحرارة المرتفعة	Up to 60 %	15 – 45 °C	Chlorella sp.
تحتوي على نسبة عالية من الأحماض الأمينية المهمة في عملية الهضم لها القدرة على النمو جيداً في الوسط عالي الحامضية	Up to 100 %	23- 27 °C	Euglena gracilis

شكل رقم (14): أفضل أنواع الطحالب التي يمكن استخدامها في عملية جمع غاز ثاني أكسيد الكربون (25)

العشوائي للمدينة إضافة الى فائدتها كحزام بيئي يعمل عمل الحزام الأخضر الذي تحاط به المدن عموماً (شكل رقم 18).



شكل رقم (17): آلية توليد الكهرباء باستخدام تقنية الطاقة الشمسية المركزة (30)



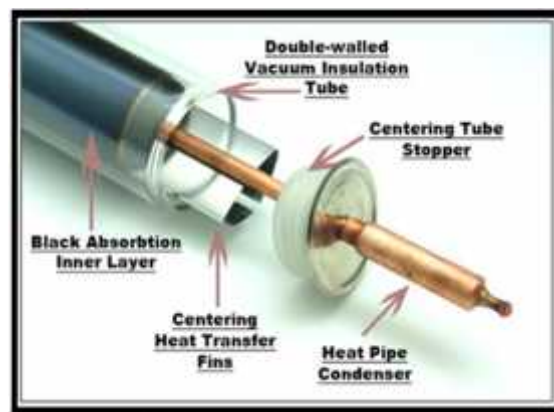
شكل رقم (18): المساحات الواسعة التي تحتاجها وحدات إنتاج الطاقة باستخدام تقنية الطاقة الشمسية المركزة (26)

المحور الثالث : بغداد والاستدامة

أولاً: أهم المؤشرات البيئية " المتعلقة بالتطبيقات قيد البحث " لمدينة بغداد

تجدر الإشارة بداية إلى أن معظم الإحصاءات المعتمدة هنا هي للعام 2009 و 2014 والذي يعتبر آخر تحديث منشور من قبل الجهاز المركزي للإحصاء . ولا يخفى على أحد أن الواقع البيئي للعراق عموماً قد تردى في السنتين الأخيرتين نتيجة تزايد أعداد النازحين وزيادة الضغط على البنى التحتية لمدينة بغداد بشكل خاص. بغداد عاصمة جمهورية العراق بلغ عدد سكانها حوالي 7.6 مليون نسمة في عام 2013، مما يجعلها أكبر مدينة في العراق، وثاني أكبر مدينة في الوطن العربي بعد القاهرة، وتأتي بالمرتبة 16 عالمياً من حيث عدد السكان. وتعد المدينة المركز الاقتصادي والإداري والتعليمي في الدولة. لقد أعلنت وزارة التخطيط أن عدد سكان العراق وحسب إسقاطات السكان لسنة 2014 بلغ (36) مليون نسمة عام 2014 ، وذكر بيان أصدرته الوزارة أن الجهاز المركزي للإحصاء أصدر تقريره السنوي عن تقديرات سكان العراق لسنة 2014 التي اعتمدت على نتائج التوزيع والحصر لسنة 2009 بكونها عملية إحصائية مستقلة تمثل ما يعرف بالتقدير السريع للسكان كسنة أساس باعتبار أن جميع المؤشرات المطلوبة

إن هذه التقنية ببساطة عبارة عن صندوق معزول معدني " لمنع تسرب الحرارة منه " له غطاء من الزجاج العادي أو البلاستيك الشفاف وبداخله لوح ماص للحرارة ملون بلون غامق ، غالباً باللون الأسود، لإمتصاص حرارة أشعة الشمس. وبداخله أنابيب يمر بها الماء لتسخينه، أو الهواء المراد تسخينه للتدفئة. واللوح الماص من معدن النحاس أو الألومنيوم أو من سبيكة من المادتين معاً، وذلك لقدرتهما الكبيرة على توصيل الحرارة بسرعة وكفاءة عالية (شكل رقم 16). ويعد النحاس الخيار الأفضل استخداماً كونه مقاوم للتآكل إلا أنه أعلى كلفة ، ويخزن الماء الساخن في خزانات عازلة للحرارة للاحتفاظ بحرارة الماء ولا سيما للاستعمال أثناء الليل (28). إن هذه التقنية يمكن أن توفر الكثير من الطاقة الكهربائية وبالتالي الكثير من المال المنفق على تسخين الماء للأغراض المنزلية خاصة الأمر الذي يساعد على تقليل العبء البيئي على المدينة ككل.



شكل رقم (16): التركيب الداخلي لوحدة التسخين باستخدام الطاقة الشمسية (28)

7. استخدام الطاقة الشمسية المركزة (Concentrated solar power)

إن هذه التقنية هي من بين التكنولوجيات التي تنسجم بإمكانيات هائلة في تقليص تكاليف إنتاج الطاقة الكهربائية وفقاً للوكالة الدولية للطاقة المتجددة (29)، حيث تمتاز بقدرتها على توفير امدادات الطاقة حتى وإن غابت الشمس ، إذ تقوم محطات الطاقة الشمسية المركزة على تركيز الأشعة الشمسية بواسطة المرايا التي تعكس الأشعة باتجاه وحدة استقبال خاصة ترتفع حرارتها إلى درجات عالية جداً. وتحوي هذه الوحدة سائل نقل حراري يقوم بنقل الحرارة إلى مولد البخار الذي يحول الماء إلى بخار ذي درجة حرارة عالية جداً. ويتم تمرير البخار في عنف من شأنتها تحريك المولد الكهربائي كما هي الحال تماماً مع محطات توليد الكهرباء التقليدية العاملة على الوقود الأحفوري (30)، وكما هو موضح في الشكل رقم (17). وتتمتع تقنيات الطاقة الشمسية المركزة بميزة مهمة تتفوق فيها على تقنية الخلايا الكهروضوئية، وهي أن تخزين الحرارة يعتبر أسهل من تخزين الكهرباء. ففي حال دعت الحاجة لتوليد الطاقة بعد غياب الشمس، يمكن تزويد المحطة بنظام خاص لتخزين سائل النقل الحراري الذي يقوم، عند عدم توفر أشعة الشمس بشكل مباشر (بعد الغروب مثلاً)، بنقل الحرارة المخزنة إلى العنفة البخارية لمتابعة توليد الكهرباء. هذا بالإضافة إلى نظام تعقب أشعة الشمس وحيد المحور الذي يوفر أفضل استخدام ممكن لأشعة الشمس (30)، وتتطلب محطات الطاقة الشمسية المركزة التعرض المباشر لكميات كبيرة من أشعة الشمس ومساحات فسيحة لكي تكون قادرة على إنتاج الكهرباء على نطاق واسع لذلك فقد تم توفير هذه المساحات على محيط أفضل استخدام ممكن لأشعة الشمس (30)، وتتطلب محطات الطاقة الشمسية المركزة التعرض المباشر لكميات كبيرة من أشعة الشمس ومساحات فسيحة لكي تكون قادرة على إنتاج الكهرباء على نطاق واسع لذلك فقد تم توفير هذه المساحات على محيط مدينة مسدد (26) حيث تم استغلالها لابعاد حضرية مدروسة كونها أصبحت احد اهم محددات التوسع الحضري

تتخيل مدى الكثافة السكانية التي تعاني منها المدينة ، وقد ترتب على ذلك العديد من المشاكل البيئية والتي سيتم استعراض عدد منها بما يتماشى مع مسار البحث.

شاملة لكل السكان ، وأوضحت الوزارة أن العاصمة بغداد شكلت أعلى المحافظات في عدد السكان لسنة 2014 ويمثلون ما نسبته 21% من مجموع سكان العراق (31) (جدول رقم 1). ولنا أن

جدول رقم (1): نسب الكثافة السكانية لمدينة بغداد ونسبتها الى العراق (31)

السكان	
عدد السكان	9,753,873
احصاء سنة	2014
النسبة من سكان العراق	21,2 %
الرتبة من حيث السكان	1
الكثافة السكانية	1,637 كم ² (4,239 ميل ²)
الرتبة من حيث الكثافة	1
المساحة	
المساحة	4,555 2 (1,759 ميل ²)
الرتبة من حيث المساحة	18
النسبة من مساحة العراق	1,04 %

مدينة بغداد تستلم اشعاع شمسي يبلغ 3362 ساعة سنويا بمعدل سطوع يومي يبلغ 7.9 ساعة/يوم وكما هو منشور في التقرير السنوي للجهاز المركزي للإحصاء لسنة 2009 (جدول رقم 2).

1. الإشعاع الشمسي لمدينة بغداد: إن العراق معروف بشدة الإشعاع الشمسي المرتفع الذي يستمر لساعات طويلة وقد اوضحت هيئة الانواء الجوية العراقية في نشرتها ذات الرقم 13 و 15 ان

جدول رقم (2): المعدل اليومي للإشعاع الشمسي وفترة السطوع والتبخر في بغداد لعام 2009 (32)

المعدل اليومي للإشعاع الشمسي وفترة السطوع والتبخر لسنة 2009			
المحطة	كمية الإشعاع الواردة (ملي واط / سم ²)	فترة سطوع الشمس (ساعة)	التبخر (ملليمتر)
الموصل	M	7.7	6.1
بغداد	M	7.9	8.9
الربطية	M	M	M
البصرة	M	8.9	9.4

M : بيانات مفقودة

4- بالإضافة إلى المقادير غير المحسوبة من الغازات المطروحة من مختلف انواع الصناعات والمولدات وعوادم السيارات التي سجلت ارتفاعا ملحوظا في اعدادها منذ عام 2003 (شكل رقم 21 أ) ، حيث تنصدر مدينة بغداد المحافظات العراقية في اعداد السيارات المسجلة في مديريات المرور لسنة 2008 ، وقد كان اكبر عدد للسيارات بجميع أنواعها في محافظة بغداد قد وصل إلى (21084) سيارة (شكل 21 ب).

ويقدم شكل رقم (22) مؤشرا واضحا عن حجم التلوث في هواء مدينة بغداد حيث بلغ مقدار النقائق العالقة في الجو ما يقارب 600 مايكرو غرام/ المتر المكعب ،في حين ان الحد اليومي الوطني المقترح هو 350 مايكرو غرام / متر مكعب ، اي ما يعادل حوالي ضعف الحد المسموح به علما ان معدل القراءات الكلية لمجموع النقائق العالقة خلال الشهر كان محسوبا بعد رفع ايام العواصف الترابية . مما تقدم يمكن تصور حجم المشكلة البيئية التي يعاني منها هواء مدينة بغداد وبالتالي ضرورة اللجوء الى حلول ناجعة ومجربة في هذا المجال.

2. ملوثات الهواء: تعاني مدينة بغداد العديد من المشاكل البيئية، ولعل مشكلة تردي نوعية الهواء في المدينة هي احد اكبر هذه المشاكل ، ويعزو التقرير السنوي للجهاز المركزي للإحصاء للعام 2009 ذلك الى انتشار مصادر حرق الوقود والعديد من الأنشطة الأخرى، ويعتبر ان الترددي الحقيقي في نوعية هواء المدن العراقية بدأ منذ العام 1991 بعد حرب الخليج نتيجة احتراق المصافي والمستودعات النفطية ومخازن المواد الكيماوية، إضافة إلى الحرائق والانفجارات واستعمال أنواع رديئة من الوقود في وسائل النقل (32) . لقد تفاقمت مشكلة تلوث الهواء في مدينة بغداد نتيجة شح المواد الاحتياطية والمعدات اللازمة للحد منه، بالإضافة الى ضعف التشريعات البيئية الرادعة للمخالفين.

وبالرجوع إلى الجداول الإحصائية المنشورة عن حالة الهواء لمدينة بغداد نجد مايلي:

1- بلغ مقدار ما استخدمته مصافي النفط في بغداد لسنة 2014 من التالي (شكل رقم 19).

2- زيت الوقود 7726484- زيت الغاز 31268.009- نفث ثقيلة 13097.

3- كانت كمية الغاز المحروقة في الشعلات (بالمتر المكعب) في مصافي بغداد قد بلغت 345532980 (شكل رقم 20).

كمية الوقود المستخدم في الأفران والمراجل وغيرها حسب النوع والشهر لسنة 2014

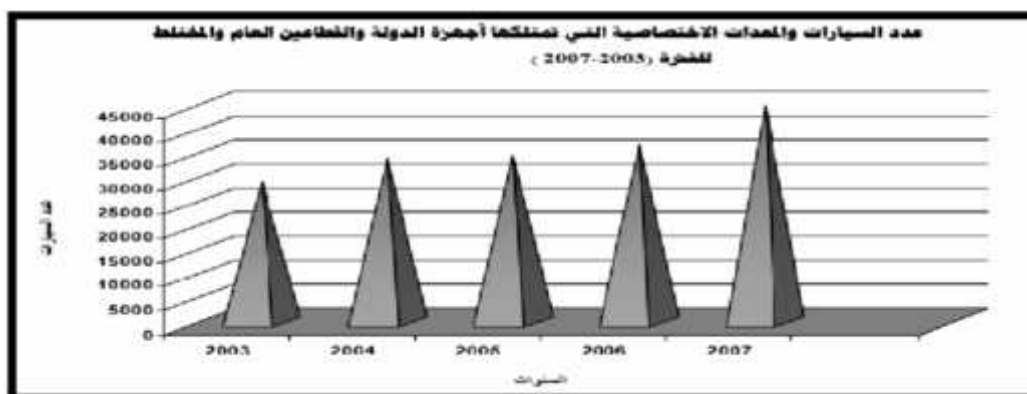
الشهر	* مصافي التسييل			مجملي المتوسط	
	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول
يناير
فبراير
مارس
أبريل
مايو
يونيو
يوليو
أغسطس
سبتمبر
أكتوبر
نوفمبر
ديسمبر
إجمالي

شكل رقم (19): كمية الوقود المستخدم في الأفران والمراجل وغيرها حسب إحصائية عام 2014 (7)

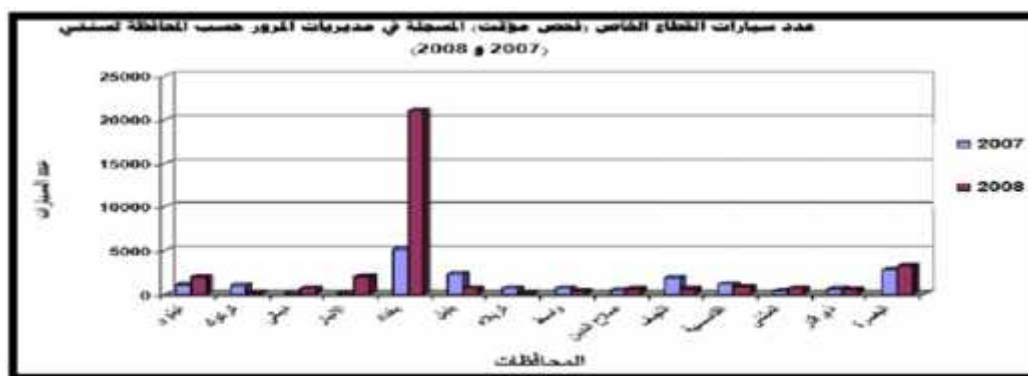
كمية الغازات المحروقة في الشبكات حسب الشهر لسنة 2014

الشهر	* مصافي التسييل			مجملي المتوسط	
	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول	غاز البترول
يناير
فبراير
مارس
أبريل
مايو
يونيو
يوليو
أغسطس
سبتمبر
أكتوبر
نوفمبر
ديسمبر
إجمالي

شكل رقم (20): كمية الغازات المحروقة في الشبكات حسب عام 2014 (7)



شكل رقم (21-أ): عدد السيارات والمعدات التي تمتلكها أجهزة الدولة والقطاع العام والمختلط للفترة 2007-2005 (32)



شكل رقم (21-ب): عدد سيارات القطاع الخاص (فحص مؤقت) المسجلة في مديريات المرور حسب المحافظة لسنتي 2007-2008 (32)

المعدلات الشهرية والمعدل السنوي لمجموع الدقائق العالقة بوحدة (مايكروغرام/م ³) في محطات مدينة بغداد لسنة 2014			
الشهر	مجموع الدقائق العالقة TSP (مايكروغرام/م ³)		محطة نوعية
	محطة نوعية	محطة نوعية	
كانون الثاني	313	390	PM10
شباط	301	411	PM10
آذار	361	261	PM10
نيسان	376	318	PM10
أيار	407	532	PM10
حزيران	655	580	PM10
تموز	2,166	2,166	PM10
آب	336	369	PM10
أيلول	357	493	PM10
تشرين الأول	528	409	PM10
تشرين الثاني	294	249	PM10
كانون الأول	276	240	PM10
المعدل السنوي	525.8	529.8	PM10

شكل رقم (22): مجموع الدقائق العالقة في محطات مدينة بغداد لعام 2014 (7)

3. كمية ونوعية المياه: يعد نهر دجلة المورد المائي الرئيس في مدينة بغداد وتتفاوت كمية المياه فيه من سنة إلى أخرى تبعاً لتباين كميات المياه الواردة من خارج العراق أو كميات الثلوج والأمطار الساقطة. وتظهر الإحصاءات أن نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك والمنتهك لسنة 2009 قد بلغت 135 متر مكعب (شكل رقم 23 -أ)، مشكلة بذلك نسبة عجز بلغت (شكل رقم 23 -ب):

1- في مناطق امانة بغداد 23%

2- في مناطق اطراف بغداد 48%

أي أن حوالي ربع سكان بغداد لا يحصلون على الماء الصافي بينما تقريباً نصف سكان اطراف بغداد لا يحصلون على الماء الصافي، إلا أن نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك كان قد ازداد قليلاً

في حدود العام 2014 ليبلغ 493 لتر/يوم (شكل رقم 24). غير أن العجز في الكميات المجهزة للسكان بقي قائماً (7). على أن الماء الصافي المجهز للمواطنين في بغداد هو بحد ذاته ماء غير صالح للشرب إذ بلغت نسبة العكورة 7.13 ملغم/لتر، كما بلغ مقدار العسرة الكلية لماء الشرب 375 ملغم/لتر، الأمر الذي دعا المواطنين إلى اللجوء إلى المياه المعبأة لاستخدامات الشرب والطبخ (شكل رقم 25). وقد حددت دائرة ماء بغداد مجموعة من الأسباب التي أدت إلى هذا التردد في خدمة الماء الصافي المقدم لائبناء المدينة وقد كان لمشاكل الطاقة الكهربائية وعدم استمراريتها الأثر الكبير على مشاريع الماء في المدينة (شكل رقم 26) (7).

لتصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك والمنتج من المشاريع العائدة الى المديريات العامة للماء وامانة بغداد حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لسنة 2009			
المحافظة	كمية الماء الصافي المستهلك (مليون م ³)	عدد السكان *	نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك (م ³)
أنطوى	717	2994979	239
غرفوك	448	934698	479
عراقى	241	1662386	145
الانبار	276	1600188	172
بغداد	1006	7455849	135
بابل	280	1765065	159
كربلاء	195	961638	203
واسط	292	1131790	268
صلاح الدين	409	1351150	303
التجف	375	1155087	325
القادسية	67	1046264	64
المثنى	134	658229	204
ذي قار	199	1718957	116
ميسان	111	867265	128
البصرة	307	1992029	154

شكل رقم (23- أ): نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك والمنتج من المشاريع العائدة الى المديريات العامة للماء وامانة بغداد حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لعام 2009 (32)

كمية الماء المنتج من المشاريع والمجمعات المائية العائدة للمديريات العامة للماء وامانة بغداد والحاجة الكلية من الماء ونسبة العجز في الإنتاج حسب المحافظة لسنة 2009							
المحافظة	عدد المشاريع العاملة	كمية الماء المنتج (م ³ / يوم)	عدد المجمعات المائية العاملة	كمية الماء المنتج (م ³ / يوم)	مجموع الماء المنتج (م ³ / يوم)	عدد السكان *	الحاجة الكلية من الماء (م ³ / يوم)
أنطوى	41	727591	75	97997	825588	2994979	988343
غرفوك	16	378476	203	243725	622201	934698	747758
عراقى	25	237043	147	141786	378829	1662386	515340
الانبار	20	372418	155	177003	549421	1600188	576068
نظرىف بغداد	10	226080	185	257347	483427	2097473	943863
أمانة بغداد	10	2358969	35	238200	2597169	5358376	3727925
بابل	18	245920	232	391741	637661	1765065	723677
كربلاء	7	242620	115	206730	449350	961638	480819
واسط	19	181100	202	247350	428450	1131790	509306
صلاح الدين	19	270200	155	194374	464574	1351150	499926
التجف	10	223960	116	232778	456738	1155087	485137
القادسية	13	198773	173	186771	385544	1046264	502207
المثنى	7	116110	37	60086	176196	658229	238647
ذي قار	18	109140	167	186208	295348	1718957	446929
ميسان	13	68600	178	285296	353896	867265	416287
البصرة	15	237000	200	567600	804600	1992029	882195
المجموع	261	6194000	2375	3714992	9908992	27295574	12684427

شكل رقم (23 - ب): كمية الماء المنتج من المشاريع والمجمعات المائية العائدة لمديريات العامة للماء وامانة بغداد والحاجة الكلية للماء ونسبة العجز في المحافظة لعام 2009 (32)

نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك من المشاريع والمصنعات المائية ومحطات التعلية والمصنعات العاملة بالطاقة الشمسية المعتمدة إلى المقريبات العامة للماء ودارة ماء بغداد حسب المحافظة هذا (القيم كمرسلة لسنة 2014)						
المحافظة	عدد السكان "	كمية الماء المنتج (م ³ /يوم)	الضخامة (م ³ /يوم)	كمية الماء الصافي المنتج بعد طرح الضخامة (م ³ /يوم)	نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك (لتر/يوم)	نصيب الفرد من الماء الصافي المستهلك (لتر/يوم)
النجف	3,524,348	1,124,096	122	1,123,974	0.319	318.9
الكرخنة	1,508,854	748,794	87	748,707	0.496	496.2
الديالى	1,548,493	665,012	74	664,938	0.423	423.0
الواسط	1,675,606	675,354	80	675,274	0.403	403.0
السنة بغداد	5,654,730	2,788,789	936	2,787,853	0.493	493.0
الفرات بغداد	2,010,561	640,453	75	640,378	0.319	318.5
بغداد	1,953,184	1,010,491	137	1,010,354	0.522	521.9
الفرات	1,151,152	797,148	100	797,048	0.692	692.4
واسط	1,303,137	624,530	72	624,458	0.479	479.2
صلاح الدين	1,509,153	863,633	110	863,523	0.572	572.2
السلي	1,359,549	890,931	108	890,823	0.641	641.1
القادسية	1,220,333	651,214	81	651,133	0.534	533.6
المتن	770,476	293,692	34	293,658	0.381	381.1
الفرات	1,979,561	488,412	67	488,345	0.247	246.7
بغداد	1,050,580	413,909	51	413,858	0.394	393.9
الفرات	2,744,788	1,305,156	177	1,304,979	0.475	475.4

شكل رقم (24): نصيب الفرد من الماء الصافي لعام 2014 (7)

الحدود الدنيا والعليا والمعدل لنتائج الفحوصات الكيميائية والفيزيائية للماء الخام والشرب في محافظة بغداد لسنة 2014						
نوع الفحص	مياه شرب			مياه خام		
	Ave.	Max.	SDa.	Ave.	Max.	SDa.
الطرية	7.12	83.7	0.3	27.7	265	1.28
الحموضة الكلية	376	771	208	378	765	214
القابلية	143	180	90	142	184	90
النوع الكلية الكلية	644	1174	290	649	1294	292
الأس الهيدروجيني	7.76	8.4	7.97	7.9	8.6	7.1
الكبريتات	92	292	28	93	226	28
الكالسيوم	94	200	46	94	221	48
المغنيسيوم	33	98	13	36	93	12
التوصيل الكهربائي	1013	1652	491	1022	1881	497
الصوديوم	66	114	23	68	172	23
البوتاسيوم	2.51	4.4	0.5	2.6	5.9	0.5
النترات	246	642	77	249	636	85

شكل رقم (25): الحدود الدنيا والعليا والمعدل لنتائج الفحوصات الكيميائية والفيزيائية للماء الخام والشرب في محافظة بغداد لعام 2014 (7)

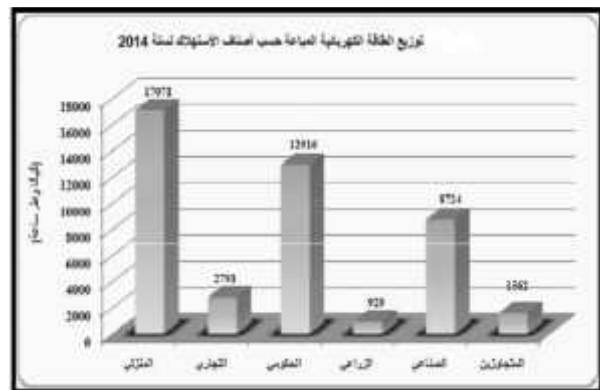
أهم المشاكل التي يعاني منها قطاع المياه في دائرة ماء بغداد والمديريات العامة للماء في المحافظات لسنة 2014		
ت	المشاكل	الدوائر المعنية
1	قلة التخصيصات السنوية المرصدة لتغطية مشاريع الماء سواء في الموازنة الاستثمارية لإنشاء المشاريع الجديدة أو الموازنة التشغيلية لتأمين متطلبات التشغيل من وقود ومواد تعقيم للإدامة والصيانة.	
2	التجاوز على الخطوط الناقلة للماء وتغادم الخطوط الناقلة مما يؤدي إلى ارتفاع نسب التسربات وتلوث المياه الواصلة إلى المستهلك.	المديريات العامة للماء في المحافظات
3	وجود إشتراكات غير رسمية من المواطنين على شبكات الماء مما سبب هدر في الماء كذلك عدم إستحصل الواردات منه.	
4	سوءية وطول إجراءات تخصيص الأراضي للمشاريع المائية من سلطات البلدية وحصول تجاوزات على أراضي المشاريع من قبل المواطنين.	
1	التجاوز على شبكات الماء بطرق غير أصولية من خلال العشوائيات المنتشرة مما يؤثر سلباً على كمية ونوعية الماء الواصلة للمواطنين.	
2	التجاوز على الانابيب الناقلة والرئيسة ذات الأقطار الكبيرة مما يؤدي على حصول هدر كبير في كميات المياه المفقودة إلى شبكات المحلات المختلفة.	دائرة ماء بغداد
3	مشاكل الطاقة الكهربائية وعدم استمراريته تؤثر بشكل كبير على المجمعات والمحطات وإن تلبية الطاقة وعدم استمراريته تؤثر به أيضاً مشاريع الماء الكبيرة ويشكل مبالئ.	

شكل رقم (26): أهم المشاكل التي يعاني منها قطاع المياه في دائرة ماء بغداد والمديريات العامة في المحافظات لعام 2014 (7)

الرصد 14.4%، الكـ ر خ 12.2%
الصدر 12.3%
3- للاستخدام الحكومي وكما يلي:
الرصد 30.6%، الكـ ر خ 31.2%
الصدر 14%
4- للاستخدام الزراعي وكما يلي:
الرصد 0.7%، الكـ ر خ 2.2%
الصدر 0.1%
5- للاستخدام الصناعي وكما يلي:
الرصد 9.3%، الكـ ر خ 5.6%
الصدر 0.7%
6- المتجاوزين وكما يلي:
الرصد 1.7%، الكـ ر خ 2.3%
الصدر 6.7%.

وتظهر النسب وجود عدد غير قليل من المتجاوزين على شبكة الكهرباء الأمر الذي أثر سلباً على نصيب الفرد من الطاقة الكهربائية حيث يوضح الشكل رقم (29) العجز الكبير في كمية الكهرباء المجهزة للمواطن الساكن في مدينة بغداد. إن هذه الإحصائيات تفسر سبب انتشار المولدات الأهلية في المناطق السكنية والتي أصبحت تشكل عبئاً ثقيلاً على المدينة. عدا عن ذلك فإن طبيعة محطات توليد الطاقة الكهربائية في العراق عموماً (ومن ضمنها بالطبع تلك الموجودة في مدينة بغداد) هي محطات غير صديقة للبيئة كونها تعتمد على الوقود الأحفوري في إنتاج الطاقة الكهربائية، فيما عدا عدد قليل من المحطات الكهرومائية والتي تشيد غالباً في مناطق السدود الكبرى أي خارج مدينة بغداد، (شكل رقم 30)، إن هذا الأمر يستدعي التفكير جدياً في وجوب إنشاء محطات صديقة للبيئة لتوليد الطاقة الكهربائية لتغطية العجز الكبير في نصيب الفرد من الكهرباء والذي أشرنا إليه سابقاً.

4. الطاقة الكهربائية: كما هو معلوم فإن الكهرباء اليوم أصبحت تشكل عصباً حيوياً للحياة المعاصرة وأن هذا القطاع يحظى باهتمام كبير من قبل واضعي الخطط ورسمي السياسات الاقتصادية الضخمة، وقد تمثل هذا الاهتمام بالتخصيصات السنوية التي لسم تستطيع لحد الان ان تحل مشكلة النقص في هذا القطاع الحيوي في مدينة بغداد التي عانت كثيراً من هذه المشكلة والتي دفعت المواطنين إلى اللجوء إلى حلول أخرى مضرّة بالبيئة للحصول على الطاقة الكهربائية كونهم المتضرر الأول من هذا النقص حيث يبدو واضحاً من البيانات الإحصائية أن أعلى استهلاك للكهرباء في بغداد كان للاستخدام المنزلي وأقلها للزراعي (شكل رقم 27).



شكل رقم (27): توزيع الطاقة الكهربائية حسب أصناف الاستهلاك لعام 2014 (7)

وقد كانت النسب كالتالي (شكل رقم 28):

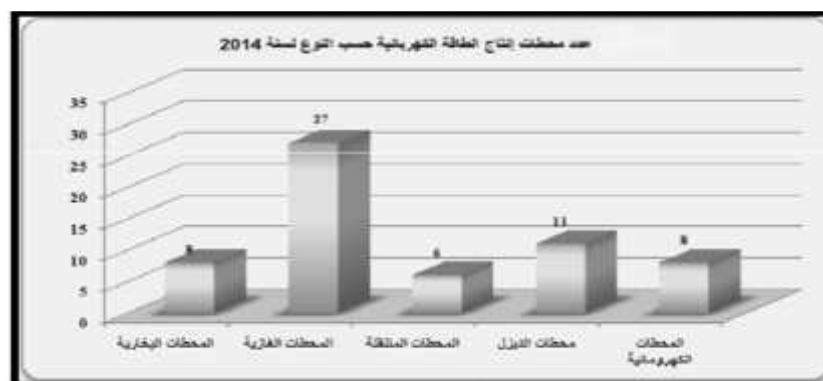
- 1- للاستخدام المنزلي وكما يلي:
الرصافة 43.3%، الكـ ر خ 46.2%، الصدر 66.2%
- 2- للاستخدام التجاري وكما يلي:

توزيع الملائمة لتلك بداية الدراسة حسب انحداف الإسفلكة مزوجة على محافظات العراق عدا إقليم كردستان لسنة 2014													
المنطقة	البلديات	المساحة	المنطقة				البلديات				المساحة	البلديات	
			المنطقة	البلديات	المساحة	البلديات	المنطقة	البلديات	المساحة	البلديات			
الربيع	الربيع	1,277,271	43.3	425,700	14.4	902,369	30.6	10,801	0.7	278,565	9.3	61,418	1.7
الربيع	الربيع	1,734,004	46.3	704,436	12.4	1,848,234	52.1	131,601	2.2	335,263	6.6	138,389	2.5
الربيع	الربيع	1,733,363	46.2	321,237	12.3	384,884	14.0	8,910	0.1	17,125	0.1	176,186	0.7
الربيع	الربيع	1,497,011	37.8	1,492,375	33.3	92,118	3.3	24,406	14.0	227,030	34.8	45,716	6.8
الربيع	الربيع	1,884,323	34.8	169,337	9.8	228,147	13.6	19,434	11.1	365,781	21.8	181,143	9.1
الربيع	الربيع	1,455,083	38.0	11,239	1.8	492,143	48.7	18,894	2.4	98,039	7.2	9,234	1.1
الربيع	الربيع	1,832,000	48.1	107,838	4.3	436,880	17.2	44,891	3.0	234,480	12.2	62,497	2.8
الربيع	الربيع	1,655,000	41.8	184,977	9.3	793,882	31.3	12,087	0.8	177,647	6.8	48,514	0.8
الربيع	الربيع	1,322,000	33.8	236,481	18.2	743,163	31.9	88,200	2.8	119,139	2.8	28,249	0.8
الربيع	الربيع	1,793,737	46.1	70,783	4.0	476,873	27.1	87,576	8.0	97,382	6.8	37,782	2.2
الربيع	الربيع	146,199	63.4	4,870	2.0	18,848	6.8	14,603	6.3	26,246	11.8	24,364	10.6
الربيع	الربيع	1,841,000	48.0	910,096	24.8	491,483	28.7	83,360	2.8	82,883	2.8	192,688	10.3
الربيع	الربيع	1,096,639	46.1	78,489	3.8	214,976	10.8	190,801	9.1	83,497	4.2	336,143	16.8
الربيع	الربيع	1,818,281	48.9	1,888,794	16.9	1,848,824	16.8	24,254	0.2	8,957,831	83.1	94,189	1.8
الربيع	الربيع	8,000,004	57.3	99,389	27.3	2,518,891	83.2	1,520,371	0.0	228,824	6.8	33,813	0.9
الربيع	الربيع	2,114,680	36.4	642,838	20.6	1,299,888	61.6	36,218	1.7	31,346	1.8	46,322	2.2
الربيع	الربيع	1,640,710	33.4	378,296	14.6	728,888	1.6	32,900	44.4	464,619	28.3	11,823	0.7
الربيع	الربيع	17,876,884	38.8	1,781,116	6.3	12,919,786	29.6	929,174	2.1	8,714,183	19.8	1,892,214	9.6

شكل رقم (28): توزيع الطاقة الكهربائية في المحافظات عد اقليم كردستان لعام 2014 (7)

نوع الخدمة	البلديات	المحافظة	إجمالي المبيعات (مليار واط . ساعة)	عدد السكان	النصيب الفرد من الكهرباء (مليار واط . ساعة سنو)	النصيب الفرد من الكهرباء المباعة (و . س)
يهدم	يهدم	يهدم	11,488,760	7,665,292	1.50	0.00017
التمتع	التمتع	التمتع	657,853	3,524,348	0.19	0.00002
		مركبات	1,664,823	1,508,854	1.10	0.00013
		مستراح الدين	806,083	1,598,153	0.53	0.00006
		بساتين	2,538,459	1,953,184	1.30	0.00015
الفرق الأوسط	الفرق الأوسط	قرى	2,022,048	1,351,152	1.76	0.00020
		للصيف	2,328,935	1,389,549	1.68	0.00019
		للغذائية	1,753,737	1,220,333	1.44	0.00016
		الأنهار	230,467	1,675,606	0.14	0.00002
الوسط	الوسط	مياه	1,541,008	1,548,493	1.19	0.00014
		والمسطح	1,989,633	1,303,137	1.53	0.00017
		البحيرة	9,415,251	2,744,758	3.43	0.00038
المنزوت	المنزوت	في القرى	3,500,004	1,979,561	1.77	0.00020
		مستراح	2,114,585	1,050,500	2.01	0.00023
		المسكن	1,640,710	770,476	2.13	0.00024
		إجمالي	43,993,346	30,994,476	1.42	0.00018

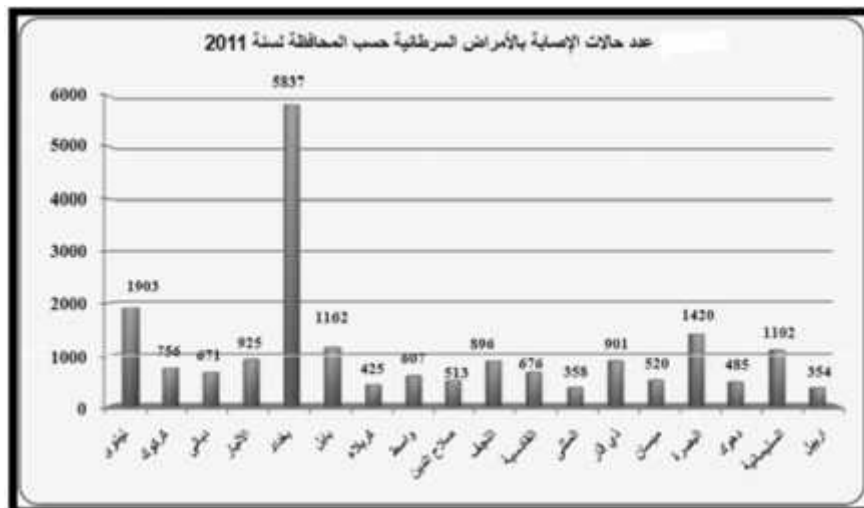
شكل رقم (29): نصيب الفرد من الطاقة الكهربائية حسب المحافظة عدا اقليم كردستان لعام 2014 (7)



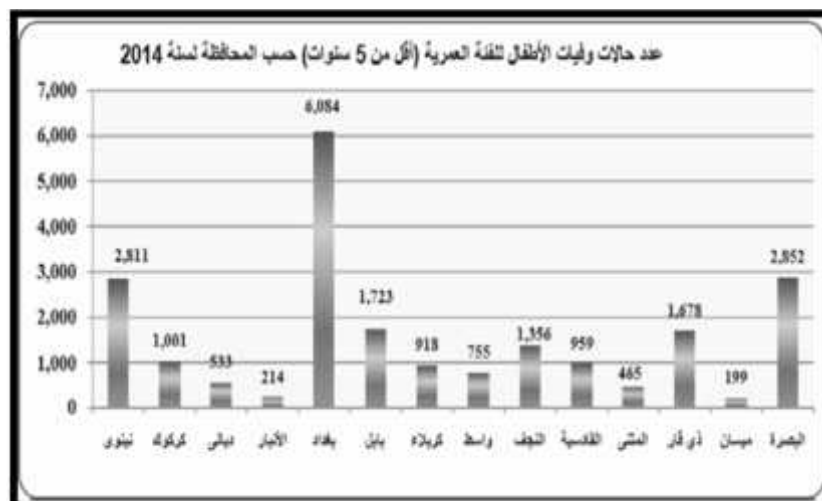
شكل رقم (30): عدد محطات انتاج الطاقة الكهربائية حسب النوع لعام 2014 (30)

وبلغت في الكرخ 94194 وقد كانت الاعلى بين محافظات العراق (7)، ومما لاشك فيه ان التلوث البيئي الذي تعاني منه المدينة يشكل احد اهم الاسباب التي ادت الى ذلك كون الاطفال هم الاقل مناعة والاكثر تائرا بالتلوث البيئي (شكل رقم 33). ان مؤشرات كهذه توضح مقدار الخطر الكبير الذي يحدق بسكان مدينة بغداد ويوعز بوجود اتخاذ كافة الاجراءات الوقائية، حيث يبقى الجانب الوقائي في طبيعة التوجهات الاستراتيجية لمكافحة الأمراض والمنهج الصحيح للعناية بصحة الفرد والمجتمع.

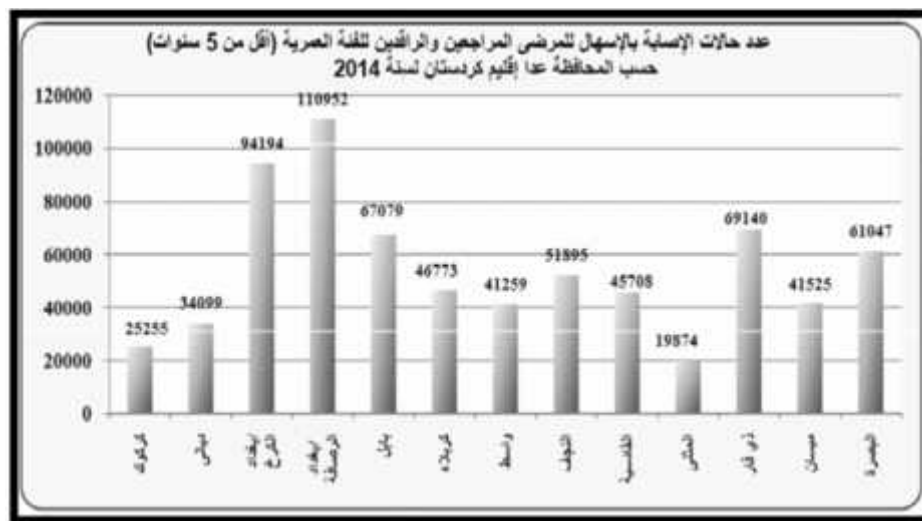
5. المؤشرات الصحية: لا يخفى على احد ما للتلوث البيئي من اثر بالغ في انتشار الامراض الخطيرة والمميتة وربما يكون مرض السرطان في مقدمة الامراض التي تتأثر بهذا الجانب حيث بلغت عدد حالات الإصابة بهذا المرض في مدينة بغداد لسنة 2011 (5837) وقد كانت الاعلى بين محافظات العراق (7) وكما هو موضح في الشكل رقم (31). كما احتلت محافظة بغداد اعلى عدد لحالات وفيات الاطفال دون سن الخامسة لسنة 2014 بواقع 6084 حالة (شكل رقم 32) ، فيما بلغت عدد حالات الإصابة بالاسهال في بغداد/الرصافة 110952



شكل رقم (31): عدد حالات الإصابة بالأمراض السرطانية حسب المحافظة لعام 2011 (7)



شكل رقم (32): عدد حالات الوفيات للأطفال للغة العمرية أقل من 5 سنوات حسب المحافظة لعام 2014 (7)



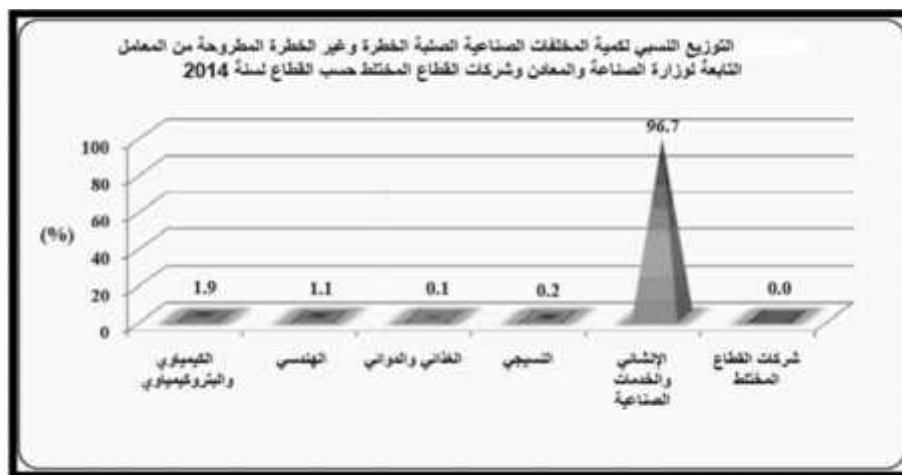
شكل رقم (33): عدد حالات الإصابة بالإنسعال للمرضى المراجعين والراقدين للفئة العمرية (أقل من 5 سنوات حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لعام 2014 (7)

الكبيرة غير المحسوبة من مخلفات البناء وعمليات الهدم للابنية التي استخدمت هذا النوع من مواد البناء في انشاء جدرانها. لقد تم التركيز على هذا الجانب من المخلفات الصناعية كونه ذي صلة بأحد التطبيقات التي تم تناولها في المبحث الثاني حيث من الممكن الاستفادة من هذه المخلفات في انتاج بلوك عازل للحرارة وبمواصفات انشائية عالية والاستفادة بذلك من مبدأ اعادة التدوير الذي يعتبر احد الحلول البيئية المهمة في مدينة مصدر.

6. قطاع الصناعات الانشائية: يوجد في محافظة بغداد معمل لانتاج كتل الترموستون وهوتايع لوزارة الصناعة وقد تم تحديد وجود نسبة عالية من المخلفات الصناعية لهذا المعمل بلغت 20000 كغم/شهر (شكل رقم 34). ومن الجدير بالذكر ان مخلفات الصناعات الانشائية هي الاعلى على الاطلاق من بين باقي المخلفات الصناعية في القطر عموماً (شكل رقم 35) (7) ، هذا بالإضافة الى الكميات

المخلفات الصناعية الصلبة الخطرة وغير الخطرة لمعامل وزارة الصناعة والمعادن لسنة 2009						
القطاع الانشائي	التركة	المصنع	مصدر المخلفات (القسو - الخط الانشائي)	التصنيف	نوع المخلفات (المكونات)	الكمية المخرجة (كغم/شهر)
	مصنع بغداد ثلاث		اسم الانتاج	غير خطرة	نشارة خشب	50
	التركة العامة للمسح المولوي والتعدين	لا يوجد				
	شركة كركوك لتوليد الانشائية / قطاع مختلط	معمل بلوك مجوف - معمل صناعة كتلي موزايك	خط صناعة الكتلي	غير خطرة	مخلفات سمكت اسود وسمكت ابيض - غراء بيضاء وكسر حجر موزايك	10000
	شركة الجازر لانتاج المواد الانشائية / قطاع مختلط	معمل الكتلي	خط علي الكتلي	غير خطرة	خليط سمكت ابيض وسمكت اسود - كاربونات الكاسيوم وغبار وكسر حجر موزايك	30000
	شركة القويرة لانتاج المواد الانشائية / قطاع مختلط	المعمل الانشائية	جالات كتلي موزايك	غير خطرة	سمكت ابيض + رمل + جصى	100000
	شركة صناعة المواد الانشائية الحديثة / قطاع مختلط	معمل كتلي - بلوك - عتائير	معمل البلوك والتنايفر	غير خطرة	سمكت + رمل + جصى	30000
	التركة الوطنية للصناعة الات المتزلي		انتاج الات المتزلي	غير خطرة	خشب + اسطخ + لمان	100
	المجموع					2209726

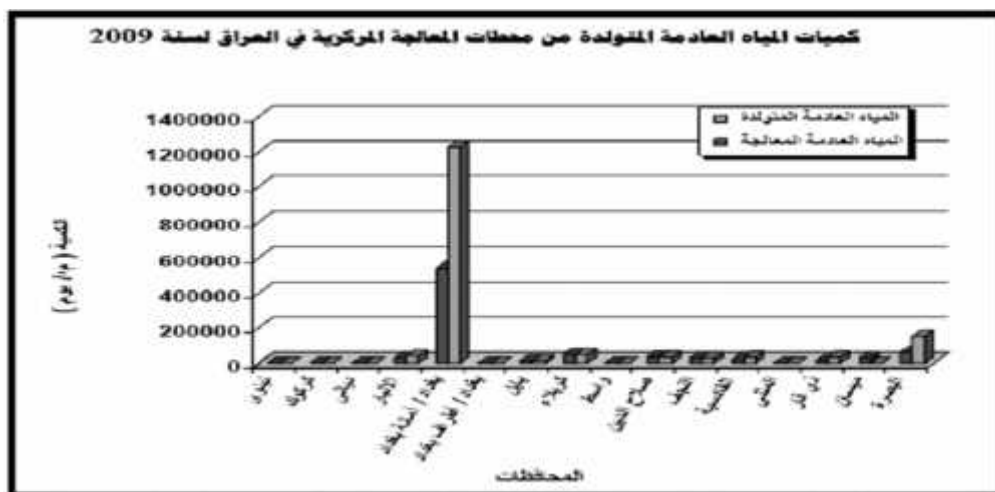
شكل رقم (34): المخلفات الصناعية الصلبة الخطرة وغير الخطرة لمعامل وزارة الصناعة والمعادن لعام 2009 (32)



شكل رقم (35): التوزيع النسبي لكمية المخلفات الصناعية الصلبة الخطرة وغير الخطرة المطروحة من المعامل التابعة لوزارة الصناعة والمعادن وشركات القطاع المختلط حسب القطاع لعام 2014 (7)

الموجودة في المدينة (شكل رقم 37) والبالغ عددها 4 وحدات تقع ضمن حدود امانة بغداد على ان نسبة المياه المعالجة منها هي 78.7% اي ان حوالي ربع الـ 65% المرتبطين بوحدات المعالجة لا يتم معالجة مياههم العادمة المتولدة وذلك لكونها تنتج بكميات تفوق الطاقة التصميمية للمحطات الاربعة المخصصة للمعالجة (شكل رقم 38) ، وبحسبة بسيطة يمكن استنتاج ان اكثر من 15% من المياه العادمة المتولدة في المدينة لا يتم معالجتها الامر الذي يشكل عبئا بيئيا مضافا على المدينة وسكانها.

7. قطاع المجاري: لقد تزايد الاهتمام عالميا منذ خمسينيات القرن الماضي بالدراسات المتعلقة بموضوع مياه الصرف الصحي ومعالجتها نظرا لما تحتويه من مخاطر وملوثات بيئية تشكل خطرا كبيرا على الصحة العامة . وفي هذا الخصوص بينت الاحصائيات ان مدينة بغداد تحتل المركز الاول من بين محافظات القطر في كمية المياه العادمة المتولدة وكما هو موضح في (شكل رقم 36) (32). وللمدينة شبكة مجاري كبيرة جدا حيث تشير الاحصاءات ان اكثر من 95% من سكان المدينة مخدمين بهذه الشبكة على ان 65% منهم فقط ترتبط شبكاتهم بمحطات ووحدات المعالجة



شكل رقم (36): كميات المياه العادمة من محطات المعالجة المركزية في العراق لعام 2009 (32)

النسبة المئوية للسكان المخدمين بشبكات المجاري (العامة والمشاركة) ونظم المعالجة المستقلة (سبكك تانك) حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لسنة 2014									
المحافظة	عدد السكان			التوزيع النسبي للسكان			النسبة المئوية للسكان المخدمين بـ		
	المخدمين بشبكات المجاري (العامة)	المخدمين بنظام المعالجة المستقلة (سبكك تانك)	المجموع*	المخدمين بشبكات المجاري (العامة)	المخدمين بنظام المعالجة المستقلة (سبكك تانك)	المجموع	شبكات مياه الشرب (الاسفل والمشاركة)	شبكات مياه الشرب (الاسفل والمشاركة)	شبكات مياه الشرب (الاسفل والمشاركة)
بغداد	3,418,618	70,487	3,524,348	1.0	97.0	2.0	100.0	—	—
كربلاء	1,482,449	0	1,508,854	1.8	98.3	0.0	100.0	1.8	40.8
النجف	1,238,794	278,729	1,548,493	2.0	80.0	18.0	100.0	0.0	33.8
الواسط	1,122,656	485,926	1,675,606	4.0	67.0	29.0	100.0	—	—
بغداد / أمارة بغداد	5,404,791	249,939	5,654,730	95.6	4.4	0.0	100.0	65.0	40.0
بغداد / أطراف بغداد	502,640	1,407,393	2,010,561	5.0	25.0	70.0	100.0	0.0	15.0
بغداد	1,839,999	0	1,953,184	5.8	94.2	0.0	100.0	5.8	3.6
كربلاء	287,788	399,450	1,151,152	40.3	25.0	34.7	100.0	11.7	43.0
واسط	873,102	430,835	1,303,137	0.0	67.0	33.0	100.0	0.0	24.7
صلاح الدين	279,193	15,092	1,509,153	18.5	80.5	1.0	100.0	—	—
النجف	687,827	701,722	1,389,549	49.5	50.5	0.0	100.0	9.9	35.1
القادسية	139,118	1,081,215	1,220,333	11.4	88.6	0.0	100.0	11.4	26.3
المنجلى	92,457	678,019	770,476	12.0	88.0	0.0	100.0	3.0	22.3
ذي قار	326,628	1,425,284	1,979,561	16.5	72.0	11.5	100.0	8.4	34.4
السليمانية	752,215	245,936	1,050,580	71.6	23.4	5.0	100.0	71.6	71.6
الناصرية	1,325,718	1,281,802	2,744,758	48.3	46.7	5.0	100.0	48.3	48.3
النجف	9,845,317	17,644,631	30,994,475	31.8	56.9	11.3	100.0	20.4	26.9

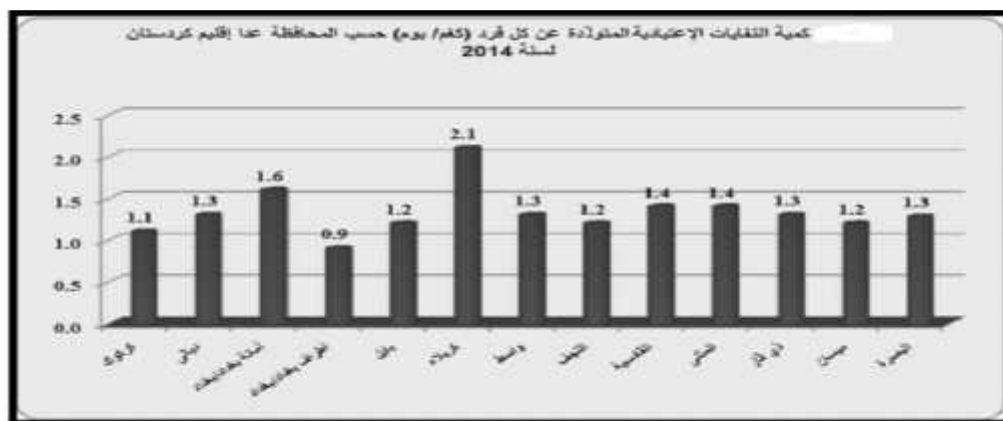
شكل رقم (37): النسبة المئوية للسكان المخدمين بشبكات المجاري حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لعام 2014 (7)

عدد محطات المعالجة المركزية التابعة للمديريات العامة للمجاري ودائرة مجاري بغداد والنسبة المئوية للطاقات الفعلية إلى التصميمية حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لسنة 2014									
المحافظة	عدد محطات المعالجة المركزية حسب طاقات الفعلية			مجموع الطاقات التصميمية			مجموع كمية المياه المعالجة		
	مجموع	فعلية	مجموع	مجموع	فعلية	مجموع	مجموع	فعلية	مجموع
بغداد	0	0	0	0	0	0	0	0	0
كربلاء	0	0	0	0	0	0	0	0	0
النجف	0	0	0	0	0	0	0	0	0
الواسط	2	1	1	86,939	4	—	—	—	—
بغداد / أمارة بغداد	4	0	0	880,000	1,118,400	880,000	79.7	100.0	100.0
بغداد / أطراف بغداد	0	0	0	0	0	0	0	0	0
بغداد	1	0	0	28,000	28,000	28,000	100.0	100.0	100.0
كربلاء	0	0	0	83,000	83,000	83,000	0.0	0.0	0.0
واسط	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
صلاح الدين	4	0	0	86,000	4	—	—	—	—
النجف	1	0	0	38,000	1	43.0	43.0	11.7	64.3
القادسية	0	1	1	18,788	2	143.4	84.3	22,268	41,000
المنجلى	1	0	0	37,800	3	83.3	100.0	20,800	20,800
ذي قار	1	2	2	36,000	3	48.7	18.6	16,000	81,871
السليمانية	3	1	1	133,400	4	100.0	91.7	153,400	145,400
الناصرية	0	0	0	238,000	1	0.0	0.0	0	87,248
النجف	17	4	0	1,840,000	26	71.8	89.1	1,122,188	1,674,717

شكل رقم (38): عدد محطات المعالجة المركزية التابعة للمديريات العامة للمجاري ودائرة مجاري بغداد والنسبة المئوية للطاقات الفعلية إلى التصميمية حسب المحافظة عدا إقليم كردستان لسنة 2014 (7)

ناقوس الخطر من التداعيات الصحية الناتجة عن معالجتها، ناهيك عن الأرقام الحقيقية التي يرجح أن تكون مضاعفة. إذ ليس هناك سوى معمل واحد تمتلكه محافظة بغداد بسعة تدوير تبلغ 200 طن يومياً، وهناك معمل آخر تابع لأمانة بغداد تبلغ سعة التدوير فيه 1000 طن يومياً، وفق رئيس مكتب الأعمار والتطوير في مجلس محافظة بغداد. المشكلة الحقيقية هنا تكمن في أنه لا يوجد أي طريقة حديثة لتدوير النفايات أو طمرها صحياً، وما موجود حالياً عبارة عن مكبات للنفايات تؤدي إلى الإصابة بالكثير من الأمراض عبر جمع وحرق النفايات، وهذا يعني أن تلوث البيئة سيظل قائماً، وأن هذه المشاريع ليست سوى حلول مؤقتة.

8. قطاع النفايات الصلبة : تعرف النفايات الصلبة Solid wastes بأنها تعبير يستخدم عالمياً في الوقت الحاضر للإشارة إلى "المخلفات غير السائلة التي تنتج عن مختلف أنواع النشاط المنزلي والحرفي والتجاري والصناعي والزراعي والتعديني (بحث منشور ادارة واقتصاد) ، وبحسب أمانة بغداد، فإن معدل النفايات التي يخلفها سكان العاصمة يبلغ 7 آلاف طن يومياً بواقع 1.6 كغم/يوم (شكل رقم 39). لكن هذا الرقم يبدو متواضعاً مقارنة مع اكداس النفايات المنتشرة في شوارع بغداد والتي لم ترفعها كواذر الأمانة ، ويبين الشكل رقم (40) النسب المئوية لأنواع النفايات التي تنتجها مختلف أنواع الأنشطة في مدينة بغداد ويظهر فيه ان النفايات المنزلية تشكل أكثر من نصف ما تنتجه المدينة من نفايات . ان منظر تكدس النفايات في مناطق مدينة بغداد صار مألوفاً لدى الجميع . لكن الأرقام التي تعلنها الأمانة، على تواضعها، تكفي لدق



شكل رقم (39): كمية النفايات الاعتيادية المتولدة عن كل فرد حسب المحافظات عدا إقليم كردستان لعام 2014 (7)

النسب المئوية %	مصادر النفايات الصلبة
65-55	النفايات المنزلية
10-5	النفايات الصناعية
15-10	النفايات التجارية
5-3	النفايات المؤسساتية
7-4	النفايات الطبية
5-2	نفايات الخدمات البلدية
40-20	نفايات الانقاض
5-1	غيرها

المصدر :- نعيم عروب مساعد ، تصميم نظام لإدارة النفايات الصلبة ضمن حدود مدينة بغداد رسالة ماجستير غير منشورة ، جامعة سائت كليمنتس ، 2010، ص 81 .

شكل رقم (40): النسب المئوية حسب مصادر النفايات الصلبة في مدينة بغداد (7)

2. احاطة الحدود الخارجية للمدينة بمحطات كبيرة لانتاج الطاقة الكهربائية من الشمس ومنها محطات تركيز الاشعة الشمسية بأنواعها مثل (محطات المرايا المقعرة ومحطات الصحون الشمسية ومحطات البرج الشمسي) والمحطات الكبيرة لانتاج الطاقة من الخلايا الكهروضوئية .

3. حث الناس على انتاج الماء الساخن من خلال اشكال مختلفة من منظومات تركيز الاشعة الشمسية والجامعات الحرارية الشمسية واقناعهم بأنها الطريقة الارخص في تسخين الماء وذلك للحد من

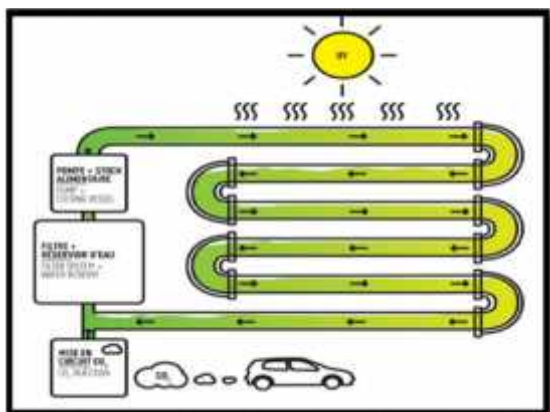
ثانيا: الحلول البيئية المقترحة للمشاكل المطروحة في ضوء التطبيقات قيد البحث

1. التوصية بالاعتماد على مصادر الطاقة المتجددة المتوفرة في العراق) وهي الطاقة الشمسية لاستخدامها لانتاج الطاقة نهائياً والكتلة الحيوية التي تشمل (النفايات) و(شبكات الصرف الصحي) لانتاج الطاقة ليلاً.

وأخيراً، فقد فرض الواقع البيئي المتردي لمدينة بغداد أعباء جديدة على المخطط الحضري والمصمم المعماري العامل في إطارها، إذ لا بد هنا من الاطلاع عن كثب على العلوم التطبيقية التي تصب في مصلحة تحسين الواقع البيئي للمدينة، حيث يتوجب الإلمام بمواضيع البيئة ومتطلباتها التقنية وكيف يمكن لها أن تنعكس على القرارات التخطيطية والتصميمية وصولاً إلى الارتقاء بالمستوى البيئي لمدينة بغداد، وبما يتناسب مع عمقها التاريخي والحضاري.



شكل رقم (41): نشر الوحدات الطحلبية في شوارع المدينة (33)



شكل رقم (42): دور الوحدات الطحلبية في تنقية الجو من غاز ثاني أكسيد الكربون (33).

المصادر

1. الموقع الرسمي لمصدر " إحدى شركات مبادلة" www.masdarcity.ae/en/index.aspx
2. Stanto S. (2010). Masdar City completion pushed back, but total cost falls. Available at: <http://web.archive.org/web/20101014014754/http://www.thenational.ae/news/uae-news/environment/masdar-city-completion-pushed-back-but-total-cost-falls>. Archived from the original on 14 October 2010.
3. Rosenthal J.; Crauderueff R. and Carter A. (2009). Urban Heat Island Mitigation Can Heat Island Mitigation Can Improve New York City's Environment: Research on the Impacts of Mitigation Strategies. A Sustainable South Bronx Working Paper October, U.S.A.
4. Hatch D. (2012). Smart Cities: Are futuristic metropolises good investments?. CQ. Res. 22(27):647.

استهلاك الطاقة الكهربائية، خاصة في المنازل كون الاستهلاك المنزلي يشكل أعلى النسب من بين باقي القطاعات وكما ورد ذكره سابقاً، ويكون ذلك مثلاً من خلال تشريع القوانين والضوابط الملزمة باستخدام هكذا تطبيقات عند استصدار اجازة البناء لأي منشأ جديد في المدينة.

4. الحرص على تنفيذ محطات إنتاج الطاقة النظيفة من الكتلة الحيوية، مثل محطات إنتاج الطاقة من النفايات والتي تستخدم النفايات المجمع من قطاعات المدينة كوقود لإنتاج الطاقة، حيث يمكن توفير مساحات خاصة لها ضمن النسيج الحضري لمدينة بغداد خاصة وانها تمتاز بكونها محطات صغيرة " كما تم استعراضه سابقاً " بحيث تكون جزءاً من مكونات المدينة مؤثرة بذلك على ما يجاورها من قطاعات وستتأثر هذه المحطات بالقطاعات المحيطة بها مؤدية إلى إنصهار هذه المحطات ضمن نسيج المدينة لتكون القلب المغذي لقطاعات المدينة بالطاقة التي لا يمكن بدونها الاستمرار بالحياة.

5. إن نظام الطاقة الجديد المقترح كأحد الحلول لتحسين الواقع البيئي لمدينة بغداد لا يمكن له النجاح ما لم ترافقه تحولات في المعالجات التخطيطية والتحول من المعالجات السلبية إلى الإيجابية لخفض درجة حرارة المدينة وبالتالي تقليل كمية استهلاك الطاقة اللازمة للتكييف، حيث تتضمن هذه المعالجات مجموعة من الاستراتيجيات التي تستند على أسس المعالجات التخطيطية والتصميمية المستخدمة في المدينة التقليدية مثل التضام والتهووية الطبيعية... الخ.

6. إبداء التسهيلات والتشجيعات التشريعية لحث المستثمرين على إنشاء وحدات معالجة خاصة لمياه الصرف الصحي تعمل على توليد الطاقة الكهربائية للمبنى، وخصوصاً في الأبنية ذات الاستخدام التجاري أو الصناعي، حيث إن مثل هذه الاستخدامات تنتج الكثير من مياه الصرف الصحي. إن معالجة من هذا النوع تساعد على:

- تخفيف الضغط على شبكات مياه الصرف الصحي وعلى محطات المعالجة المركزية في المدينة التي تعاني أصلاً من كثرة الضغط عليها، حيث إنها، وكما أسلفنا، تعمل فوق طاقتها التصميمية.

- قدرة هذه الوحدات على إنتاج ماء صاف يمكن استخدامه لأغراض التنظيف أو السقي، أو ربما لأغراض صناعية أخرى.

- هذا بالإضافة إلى الهدف الأساسي من إنشاء مثل هذه الوحدات وهو إنتاج الطاقة الكهربائية.

7. توفير وحدات ترشيح حيوية (بايو فلتر) في وحدات المعالجة المركزية لمياه الصرف الصحي العاملة في مدينة بغداد للحد من انبعاث غاز سلفات الهيدروجين الذي يعد أكثر الغازات انبعاثاً من مياه الصرف الصحي، والذي يعتبر خطراً جداً كونه غازاً عالي السمية وقابل للاشتعال.

8. نشر الوحدات الزجاجية الطحلبية لاستحصال غاز ثاني أكسيد الكربون في عموم المدينة، ومحاولة توفيرها بأشكال حضرية جميلة والاستفادة منها كأحد العناصر الجمالية في المحيط الحضري لمدينة بغداد (شكل رقم 41)، بالإضافة إلى فائدتها البيئية المتمثلة بسحب غاز ثاني أكسيد الكربون من الجو وإعادة استخدامه للأغراض الصناعية (شكل رقم 42).

9. سد العجز في إنتاج الماء الصافي المجهز للمواطن في مدينة بغداد إضافة إلى رفع مستوى الماء المجهز من خلال تقليل نسبة العكورة والعسرة فيه عن طريق إنشاء محطات تصفية تعتمد تقنية التناضح الامامي التي تمتاز بكونها اقتصادية وأقل كلفة حيث أنها لا تستهلك الكثير من الطاقة في عملية المعالجة إذ يتم تشغيل نموذج النظام باستخدام أحد أشكال الطاقة البديلة خاصة وأن أحد أسباب العجز في إنتاج الماء الصافي يعود إلى انقطاع التيار الكهربائي بصورة مستمرة وكما ورد في التقرير السنوي للجهاز المركزي للإحصاء لسنة 2014.

10. اعتماد مبدأ إعادة التدوير في مختلف أنواع الصناعات وخاصة في الصناعات الانشائية كونها تنتج 97% من المخلفات الصناعية، الأمر الذي لا بد فيه من وقفة جادة لإعادة النظر في أسلوب التعاطي مع هذه النسبة المخيفة من المخلفات، والتي تشكل في الوقت نفسه ثروة حقيقية لإعادة إنتاج مواد بناء جديدة وصديقة للبيئة ربما أحدها " البلوك المركب العازل للحرارة " الذي تناوله البحث بالتحليل العلمي..

22. Shareefdeen ZM.; Aidan A.; Ahmed W.; Khatri MB.; Islam M.; Lecheheb R. and Shams F. (2010). Hydrogen Sulphide Removal Using a Novel Biofilter Media. *Int. J. Chem. Biol. Eng.* 3:2- 10.
23. Akther N.; Sodiqa.; Giwa A.; Daer S.; Arafat HA. and Hasan SW. (2015). Recent advancements in forward osmosis desalination: A review. *Chem. Eng. J.* 281:502–522.
24. Abdel Jabbar N.; Aidan A.; Razouk H.; Chihadih N.; Faraghat S. and El-Tal Y. (2013). Biodiesel Production from Algal Oil: A Simulation Study. Department of Chemical Engineering American University of Sharjah, Sharjah, UAE.
25. Al Hammadi M.; Yassin K.; Alshamsi M.; Abdul Majeed A. and Marwan R. (2014). Modeling and Simulation of Bioreactors for CO₂ Removal From Landfill Gases. The American University of Sharjah/College of Engineering, Chemical Engineering Department.
26. موقع بوابة دبي العقارية دليلك للمشاريع الاستثمارية www.2daydubai.com
27. شركة ابريكوس لتقنية السخانات الشمسية <http://www.apricus.com>
28. <http://www.solarpanelsplus.com>
29. موقع البنك الدولي <http://blogs.worldbank.org>
30. محطة شمس العاملة في مصدر <http://shampower.ae>
31. الموقع الرسمي للجهاز المركزي للإحصاء <http://www.cosit.gov.iq/ar/>
32. تقرير إحصاءات البيئة في العراق لسنة 2009.
33. <http://www.atlasobscura.com/articles/could-urban-algae-farms-clean-up-our-air>
5. Al Mubadala Company. (2009). Whole City Awards : Masdar City – A Sustainable Community. Available at: www.masdarcity.ae
6. Oliveria F. (2011). New Eco-Cities New Open Spaces :the Future of Green and Blue Infrastructures. UIA Conference Tokyo, Japan. P.: 62.
7. تقرير إحصاءات البيئة في العراق لسنة 2014.
8. الخفاجي ، هالة حسين موسى. (2014). المدينة الصديقة للبيئة بين الماضي والحاضر (بغداد نموذجا). المؤتمر الدولي للعلوم الهندسية ، الجامعة المستنصرية.
9. Kubis .M. (2011). Masdar City – A Fes of the Future?. *History and Theory*. Available at: http://www.michalkubis.com/downloads/masdar_city.pdf
10. Shahan Z. (2013). Masdar City – Does It Have A Bright Future? . *Clean Technica*. Retrieved 6 July 2015. Available at: <http://cleantechnica.com/2013/03/20/masdar-city-does-it-have-a-bright-future/>
11. Schuler M. (2010). The Masdar development Show Case with Global Effect. Volume (5) Urban Futures (2030) Urban Development and Urban Lifestyle of the Future, Heinrich-B ll-Stiftung, Schumannstr, Germany.
12. Walsh B. (2011). Masdar City: The World's Greenest City? . Available at: <http://content.time.com/time/health/article/0,8599,2043934,00.html>
13. Snyder L.(2009). Masdar City: The Source of Inspiration or Uneconomical Spending? *International Environmental Issues*. P.: 10.
14. Palca J. (2008). Abu Dhabi Aims to Build First Carbon-Neutral City. NPR Organization.
15. Bullis K. (2009). A Zero-Emissions City in the Desert. *Technol. Rev.* 112(2): 56-63.
16. المدرس ، خالد عبد الوهاب مصطفى. (2013). اثر الطاقات المتجددة على الصورة البيئية للمدينة المستدامة في العراق. اطروحة دكتوراه ، كلية الهندسة، جامعة بغداد.
17. Fadhil AY.; Ali AG. and Saadi D. (2013). Producing Load-Bearing Composite Blocks from AAC and Concrete. The American University of Sharjah/College of Engineering,Civil Engineering Department.
18. الموقع الرسمي لشركة الصناعات الوطنية الكويتية. <http://www.nicbm.com/ar/>
19. Soubra S.; Zaidi S.; Qazi R.; Al-Basha N. and Al-Nahdi M. (2012). Microbial Fuel Cell Production of Electricity from AUS Waste Water. The American University of Sharjah/College of Engineering, Chemical Engineering Department.
20. Nenov V.; Aidan A.; Yordanova G. and Bonev B. (2011). MFC with Semi Permeable Catholyte Chamber , International Conference on Water, Energy and Environment. 2011, 1 Burgas “Asen Zlatarov University, Burgas 8010, Bulgaria - American University of Sharjah ,College of Engineering ,Chemical Engineering Department.
21. Ataya A.; Aqrabi F.; Pour HH.; Guirgues M.; Ahmad S. and Abbas S. (2012). An Experimental Study on Landfill Gas Removal. Final Report, 03 January 2012, The American University of Sharjah/College of Engineering, Chemical Engineering Department CHE 491, Senior Design II.

N.B The views expressed in this issue are of the authors and do not necessarily reflect the views of the Editorial Board or the policies of the International Centre.

Copyright © 2016 by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or copied in any form or by any means without prior written permission from the Editor-in-Chief of the Journal.